

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ**  
**ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**  
**Εργαστήριο Ανθοκομίας**

**Αξιολόγηση των διαφόρων τεχνικών χρώσης**  
**των σπόρων των ορχεοειδών**



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΡΑΤΣΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**

**Επιβλέπων**

**Λέκτορας Λύκας Χρήστος**

**ΒΟΛΟΣ, 2012**

ΦΠΑΠ



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 11207/1  
Ημερ. Εισ.: 07-12-2012  
Δωρεά: Συγγραφέα  
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΦΠΑΠ  
2012  
ΠΡΑ

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ  
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Εργαστήριο Ανθοκομίας**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Αξιολόγηση των διαφόρων τεχνικών χρώσης  
των σπόρων των ορχεοειδών**

**ΠΡΑΤΣΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**

**ΒΟΛΟΣ 2012**

### **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

Χ. Λύκας (Επιβλέπων)  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Λέκτορας  
Εργαστήριο Ανθοκομίας

Α. Χα (Μέλος)  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Καθηγητής  
Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης φυτών

Γ. Νάνος (Μέλος)  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αναπληρωτής Καθηγητής  
Εργαστήριο Δενδροκομίας

**ΠΡΑΤΣΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**

**Αξιολόγηση των διαφόρων τεχνικών χρώσης των σπόρων των ορχεοειδών**

LACEC ISBN no:

## **Ευχαριστίες**

Με την ολοκλήρωση των σπουδών μου, θα ήθελα να αναφερθώ στους ξεχωριστούς εκείνους ανθρώπους, οι οποίοι με βοήθησαν, με στήριξαν και τους εκφράζω τις ευχαριστίες μου. Αρχικά θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον Κο Λύκα Χρήστο, Λέκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με τη μελέτη των τεχνικών χρώσης των σπόρων των ορχεοειδών με τετραζόλιο και κατ' επέκταση με το γνωστικό αντικείμενο της Ανθοκομίας, καθώς και για την αμέριστη βοήθειά του κατά τη διεξαγωγή του πειράματος και τη συγγραφή της εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Κο Αβραάμ Χα Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Γενετικής και Βελτίωσης φυτών καθώς και τον Κο Γεώργιο Νάνο Αναπληρωτή Καθηγητή Δενδροκομίας του Τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συμμετοχή τους στη συμβουλευτική επιτροπή. Επίσης θα ήθελα να αναφέρω ότι το πειραματικό μέρος της εργασίας έγινε στο εργαστήριο Ανθοκομίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την ηθική και υλική στήριξή τους στην ολοκλήρωση των σπουδών μου και τη συνεχή συμπαράστασή τους όλον αυτό τον καιρό.

**Πράτσας Σωτήριος**

**Βόλος, 2012**

## Πίνακας Περιεχομένων

Κεφάλαιο 1 . Εισαγωγή.....	9
Κεφάλαιο 2 . Γενικό Μέρος.....	12
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΟΡΧΙΔΕΑΣ.....	13
2.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΡΧΙΔΕΑΣ ΤΩΝ <i>OPHRYS ORCHIS</i> .....	16
2.3 Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ.....	17
2.4 ΟΙ ΣΠΟΡΟΙ ΤΩΝ ΟΡΧΕΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΤΟ ΦΥΤΡΩΜΑ.....	18
2.5 ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ.....	19
2.6 ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ.....	19
2.7 ΤΕΣΤ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	20
2.8 ΤΕΧΝΙΚΗ ΧΡΩΣΗΣ ΜΕ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟ (2,3,5 TRIPHENYL TETRAZOLIUM).....	21
2.9 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ.....	22
2.9.1 Υπέρηχος.....	22
2.9.2 Υποχλωριώδες Ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ .....	22
Κεφάλαιο 3 . Υλικά και Μέθοδοι.....	24
3.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΤΡΙΒΛΙΑ.....	25
3.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΣΩΛΗΝΑΚΙΑ.....	25
3.3 ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗ ΧΡΩΣΗΣ.....	25
3.3.1 Διαβροχή με νερό.....	25
3.3.2 Επεξεργασία με υπέρηχο.....	25
3.3.3 Επεξεργασία με υποχλωριώδες ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ .....	26
3.4 ΧΡΩΣΗ ΜΕ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟ.....	26
3.5 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΦΑΣΕΩΝ ΜΕ ΕΠΙΠΛΕΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΒΥΘΙΖΟΜΕΝΟΥΣ ΣΠΟΡΟΥΣ.....	26



<b>Κεφάλαιο 4 . Αποτελέσματα και Συζήτηση.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΤΡΙΒΛΙΑ.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΣΩΛΗΝΑΚΙΑ.....</b>	<b>28</b>
<b>4.3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΚΑΙ ΧΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ.....</b>	<b>29</b>
4.3.1 Διαβροχή με νερό και χρώση με τετραζόλιο.....	29
4.3.1.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι.....	29
4.3.2 Επεξεργασία με υπέρηχο και χρώση με τετραζόλιο .....	31
4.3.2.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι.....	31
4.3.2.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι.....	32
4.3.3 Επεξεργασία με υποχλωριώδες ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ και χρώση με τετραζόλιο.....	32
4.3.3.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι.....	32
4.3.3.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι.....	33
<b>4.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ.....</b>	<b>34</b>
4.4.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι.....	34
4.4.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι.....	35
4.4.3 Συσχέτιση της καταβύθισης των σπόρων με τη ζωτικότητα τους .....	36
<b>Κεφάλαιο 5 . Συμπεράσματα.....</b>	<b>38</b>
<b>Κεφάλαιο 6 . Βιβλιογραφία.....</b>	<b>40</b>

## **Κεφάλαιο 1 . Εισαγωγή**

## 1. Εισαγωγή

Τα φυτά τα είδη της επίγειας ορχιδέας ανήκουν στην οικογένεια των ορχιδιδών, της τάξης των ορχεοειδών ή ορχιδωδών. Η ονομασία αυτή αποδίδεται σε χιλιάδες είδη τα οποία αναπτύσσονται κυρίως στα τροπικά και υποτροπικά κλίματα και παρουσιάζουν πολύ μεγάλη ποικιλία μορφών.

Πρόκειται για πολυετή ποώδη φυτά, κυρίως επίφυτα, τα οποία αναπτύσσονται πάνω στους κορμούς και στους βλαστούς των δέντρων των τροπικών δασών. Αντίθετα, οι ορχιδέες των εύκρατων και των ψυχρών ορεινών περιοχών είναι συνήθως επίγειες και φυτρώνουν σε σκιερά μέρη με υγρασία. Οι περισσότερες ορχιδέες είναι αυτότροφες, αλλά υπάρχουν και σαπροφυτικά είδη στα οποία απουσιάζει η χλωροφύλλη ή ακόμη και τα φύλλα. Οι επιφυτικές ορχιδέες διαθέτουν συχνά εναέριες ρίζες οι οποίες καλύπτονται από ένα λεπτό σπογγώδες στρώμα, που απορροφά το νερό της ατμόσφαιρας.

Κάθε άνθος έχει αρσενικά (στήμονες) και θηλυκά (ύπερους) αναπαραγωγικά όργανα, τα οποία ενώνονται σχηματίζοντας ένα είδος στήλης, το γυμνοστήμιο, το οποίο μερικές φορές επιμηκύνεται σε ένα σαρκώδες μικρό ρύγχος. Η γύρη είναι κοκκώδης ή συγκολλημένη κατά ροπαλόμορφες μάζες (γυρεομάγματα) που προσκολλώνται με την κολλώδη βάση τους στην κεφαλή των εντόμων-επικονιαστών, διευκολύνοντας έτσι τη διαδοχική επικονίαση των ανθών. Η ωοθήκη είναι υποφυής, μονόχωρη, αποτελούμενη από τρία συμφυή καρπόφυλλα.

Ιδιαίτερο βιολογικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανάγκη που έχουν πάρα πολλά είδη ορχιδέων, ειδικότερα τροπικά, για να ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο, από έναν ενδοτροφικό μυκορριζικό μύκητα, η συμβίωση με τον οποίο συντελεί στην ανάπτυξη των σπερμάτων τους. Τα σπέρματα παράγονται κατά πολύ μεγάλους αριθμούς, είναι λεπτότατα σαν σκόνη και κατά τη στιγμή της διασποράς στερούνται τελείως αποθησαυριστικών ουσιών. Τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται για την ανάπτυξή τους παρέχονται από τον μύκητα. Οι ορχιδέες έχουν εξελιχθεί παράλληλα με ορισμένες ομάδες εντόμων, στα οποία στηρίζονται για την επικονιάσή τους. Η κατασκευή του άνθους και το ιδιαίτερο άρωμά τους συμβάλλουν στην προσέλκυση των εντόμων-επικονιαστών.

Η ορεινή και ημιορεινή χλωρίδα περιλαμβάνει μικρές και χαριτωμένες ορχιδέες που αναπτύσσονται στους αγρούς, στους βοσκότοπους και στα δάση και ανθίζουν το καλοκαίρι. Πρόκειται για επίγειες ορχιδέες, οι οποίες έχουν τα μικρά άνθη τους διατεταγμένα κατά επάκριες βοτρυώδεις ταξιανθίες διάφορων σχημάτων και διαθέτουν γενικά κονδυλώδη ριζώματα. Στο ωοειδές σχήμα των κονδύλων αυτών οφείλει η ομάδα την ονομασία της, η οποία προέρχεται από την ελληνική λέξη όρχις. Οι ορχιδέες είναι περιζήτητες για την ομορφιά και τη μεγαλοπρέπεια των ανθών τους. Οι επίγειες ορχιδέες συναντώνται πιο συχνά ως φυτά εσωτερικού χώρου δεδομένου ότι είναι πιο εύκολο να αναπτυχθούν, ενώ οι απαιτήσεις τους είναι γενικά υψηλές σε οργανική ουσία.

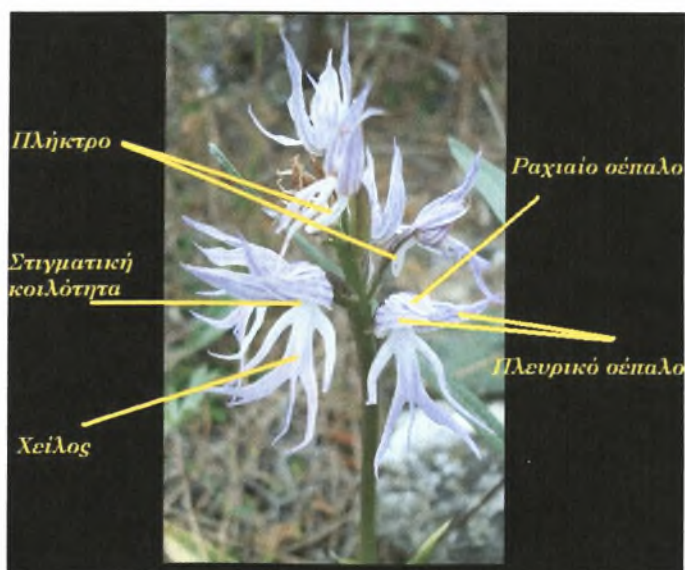
Η ελληνική χλωρίδα περιλαμβάνει πολυάριθμα γένη επίγειων ορχιδέων με σημαντικό αντιπρόσωπο το γένος *Orchis*, τα γένη του οποίου έχουν συνήθως πορφυρά ή ιώδη άνθη και συναντώνται αυτοφυή τόσο στην ηπειρωτική όσο και στη νησιωτική χώρα. Άλλα σημαντικά είδη είναι το *Cypripedium calceolus*, το εξαίρετο άνθος του οποίου έχει χαρακτηριστικό κίτρινο, διογκωμένο γλωσσάριο και το *Nigritella nigra*, το οποίο έχει μελανοπορφυρά άνθη, με έντονο άρωμα βανίλιας, στα οποία το γλωσσάριο είναι στραμμένο προς τα πάνω. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν διάφορες ορχιδέες το άνθος των οποίων μοιάζει στη μορφή με έντομο, προσαρμολογή που αποσκοπεί στην προσέλκυση των επικονιαστών. Σε ορισμένα είδη

του γένους *Ophrys* το βελούδινο γλωσσάριο θυμίζει το υπογάστριο αράχνης, ενώ το είδος *Ophrys apifera* έχει άνθη με κοίλο, κυρτό γλωσσάριο, μελανοκαστανό με κίτρινες γραμμές, που το κάνουν σχεδόν όμοιο με το υπογάστριο μέλισσας.

Ο κύριος στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να γίνει αξιολόγηση των διαφόρων τεχνικών χρώσης με τετραζόλιο για την εκτίμηση του ποσοστού των ζωντανών σπόρων των ορχεοειδών, καθώς και αν συσχετίζεται η καταβύθιση των σπόρων με τη ζωτικότητα και τη χρώση. Έτσι, για τους σκοπούς της εργασίας η διαχείριση των σπόρων έγινε σε μεγάλα και μικρά γυάλινα τριβλία διαμέτρου 10 και 5 cm αντίστοιχα αλλά και σε πλαστικά σωληνάκια μήκους 10 cm. Οι τεχνικές μεταχείρισης των σπόρων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν με νερό, με υπέρηχο και με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  2%, ενώ η χρώση έγινε με τετραζόλιο 2%.



Εικόνα 1. Δομή και μορφολογία επίγειας ορχιδέας του γένους *Ophrys*.



Εικόνα 2. Δομή και μορφολογία επίγειας ορχιδέας του γένους *Orchis*.

## **Κεφάλαιο 2 . Γενικό Μέρος**

## 2. Γενικό Μέρος

### 2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΟΡΧΙΔΕΑΣ

Οι ορχιδέες πάντοτε συνάρπαζαν τους ανθρώπους. Αποτελούσαν και αποτελούν ακόμα και σήμερα σύμβολα αγάπης πολυτέλειας και ομορφιάς. Στην ελληνική μυθολογία, ο Όρχις ήταν γιος μιας νύμφης και ενός σάτυρου. Κατά τη διάρκεια των εορτών προς τιμήν του Βάκχου, διέπραξε ιεροσυλία, επιχειρώντας να βιάσει μια ιέρεια. Η τιμωρία του ήταν να κατασπαραχθεί από άγρια θηρία και να μεταμορφωθεί σε ένα αδύνατο και σεμνό φυτό. Ο Θεόφραστος ήταν ο πρώτος από τους αρχαίους συγγραφείς που αναφέρθηκαν στις ορχιδέες. Ήταν αυτός που τους έδωσε την ονομασία Όρχις επιστημονικά, ορμώμενος από τον μύθο του Όρχι και αντανακλώντας την ομοιότητα της διπλοκόνδυλης ρίζας τους με τα ανδρικά γεννητικά όργανα, αυτά που ήταν αιτία της περιπέτειας του γέρου Όρχι.

Οι αρχαίοι Έλληνες πίστευαν ότι μπορούσαν να ελέγξουν το φύλλο των αγέννητων ακόμα παιδιών τους τρώγοντας κονδύλους ορχιδέας. Αν ο πατέρας έτρωγε μεγάλους νεαρούς κονδύλους το παιδί θα ήταν αρσενικό, αν η μητέρα έτρωγε μικρούς κονδύλους το παιδί θα γεννιόταν θηλυκό. Οι αρχαίοι μας πρόγονοι τις θεωρούσαν σύμβολα ανδρισμού και γονιμότητας. Οι κινέζοι τις αποκαλούσαν τα φυτά με το άρωμα βασιλιά, ενώ στο μεσαίωνα ήταν το βασικό συστατικό των φυτικών θεραπευτικών σκευασμάτων. Επίσης θεωρούνταν αφροδισιακό και ήταν βασικό συστατικό σε ερωτικά φίλτρα και σιρόπια.

Στις αρχές του 18<sup>ου</sup> αιώνα καθιερώθηκε η συγκομιδή ορχιδέας σε πολλά σημεία του κόσμου. Εξαιτίας της ομορφιάς των ασυνήθιστων λουλουδιών τους και των μεθυστικών αρωμάτων τους κάποιοι Άγγλοι εξερευνητές έφεραν ορχιδέες από τις μακρινές τότε χώρες κατά τη διάρκεια του 18<sup>ου</sup> αιώνα. Στην Αγγλία άρχισαν να καλλιεργούνται από λίγους βοτανολόγους και κάποιους πλούσιους χομπίστες. Η κατάσταση άλλαξε όταν το 1818 ο κύριος Κάτλεν κατάφερε να ανθίσει η ορχιδέα του την οποία και διέσωσε από κάποιο δέμα που έλαβε στο οποίο οι ορχιδέες είχαν χρησιμοποιηθεί ως υλικό συσκευασίας. Το όνομά του δόθηκε σε μια ολόκληρη κατηγορία φυτών και διατηρείται έως σήμερα. Η μεγάλη ζήτηση σε ορχιδέες φυσικά κατέληξε στην απογύμνωση τεράστιων εκτάσεων στις οποίες γίνονταν συγκομιδή φυτών. Ευτυχώς στις μέρες μας η συγκομιδή φυτών από το φυσικό περιβάλλον απαγορεύεται αυστηρότατα καθώς κάποιες ποικιλίες ορχιδέας ανήκουν στα υπό εξαφάνιση είδη.

Οι τροπικές ορχιδέες διανέμονται σε πάνω από ένα τέταρτο της επιφάνειας της γης (Άλκιμος, 1988) αλλά το μισό αυτής της επιφάνειας των τροπικών στην οποία περιορίζονται είναι ακατάλληλο για επίφυτες ορχιδέες οι οποίες φυτρώνουν σε βράχους ή σε άλλα δένδρα ενώ οι επίγειες ή γεωφυτικές φυτρώνουν στη γη καθώς περιέχει ερήμους, ημι-ερήμους, κορυφές ψηλών βουνών όπου οι θερμοκρασίες είναι πολύ χαμηλές, άγονες και ελλειπείς σε δένδρα περιοχές, οι οποίες λόγω τοπικών αιτιών, δεν δέχονται αρκετή βροχόπτωση ή το δέχονται σε τόσο υποβαθμισμένη ποσότητα ώστε οι ορχιδέες να μην μπορούν να υπάρξουν. Τα πιο γνωστά είδη ορχιδέας βρίσκονται σε δύο περιοχές, αν μπορούν αυτά τα αχανή εδάφη να χαρακτηριστούν περιοχές. Η πρώτη, η δυτική περιλαμβάνει την κεντρική και τροπική Νότιο Αμερική μαζί με τις δυτικές Ινδίες. Η δεύτερη, η ανατολική η οποία είναι πιο πλατιά διασκορπισμένη αγκαλιάζει την Ινδία, Αφρική, Κίνα, Ταιβάν, Μπούρμα (Βιρμανία), Ταϊλάνδη, την πρώην Ινδοκίνα, τις Φιλιππίνες, τις Ανατολικές Ινδίες και την Αυστραλία.



Η καλλιέργεια των ορχεοειδών έχει τις ρίζες της βαθιά στην ιστορία. Ο μεγάλος κινέζος φιλόσοφος Κομφούκιος (551-479 π.Χ.) αναφέρει στα γραπτά του ότι τα άνθη τους χρησιμοποιούνταν για στολισμό των σπιτιών. Οι αρχαίοι Έλληνες και οι Ρωμαίοι κοίταζαν τις ορχιδέες περισσότερο από φαρμακευτική σκοπιά παρά από αισθητική. Πάντως το μεγάλο ενδιαφέρον για την καλλιέργειά τους εμφανίστηκε τις πρώτες δεκαετίες του 1700. Την περίοδο αυτή οι θαλασσοπόροι, οι εξερευνητές και οι βοτανολόγοι άρχισαν να εισάγουν στη Μεγάλη Βρετανία από όλα τα μέρη του κόσμου αυτά τα φυτά με τα περίεργα και πανέμορφα λουλούδια.

Η εμπορική καλλιέργεια των ορχεοειδών άρχισε το 1821 από έναν Άγγλο, τον C. Loddiges, κοντά στο Λονδίνο. Όμως, χρειάστηκε να περάσει σχεδόν ένας αιώνας από τότε για να μαζικοποιηθεί η παραγωγή τους. Το 1913 ιδρύθηκε η επιχείρηση Sun Kee στη Σιγκαπούρη, η οποία και σήμερα διατηρεί μια έκταση 130 στρεμμάτων περίπου, με καλλιέργειες των γενών *Arahnis*, *Aranda* και *Aranthera*, τα κομμένα λουλούδια των οποίων εξάγονται στην Ευρώπη. Οι ορχιδέες δεν αναπτύσσονται μόνο στα τροπικά δάση. Υπάρχουν ποικιλίες που αναπτύσσονται σε άγονα βραχώδη εδάφη (χρησιμοποιώντας τους βράχους ως στήριγμα, όπως ακριβώς τα κλαδιά των δένδρων) ενώ υπάρχουν ποικιλίες που ενδημούν σε λιβάδια, δάση κωνοφόρων και πλαγιές βουνών. Είναι πολλοί λίγοι εκείνοι που δε γνωρίζουν ότι οι ορχιδέες φυτρώνουν και σε περιοχές της Ελλάδας (Άλκιμος, 1988).

Ενδημικά είδη ορχιδέας υπάρχουν και στη χώρα μας αλλά και στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου όπως και σε κάθε άλλη γωνιά της γης. Η Ελλάδα με το ευνοϊκό κλίμα που διαθέτει, συγκεντρώνει τα περισσότερα είδη από ορχιδέες (Αντωνόπουλος, 2009). Δεν είναι βέβαια σε μέγεθος τόσο μεγάλες σαν τις τροπικές, ούτε τα άνθη τους τόσο μεγάλα, αλλά μαγεύουν εξίσου με τα χρώματα, τα σχήματα και τη μυρωδιά τους. Από τα 2000 είδη που περιλαμβάνει η οικογένεια των ορχεοειδών στο φυτικό βασίλειο, περίπου 350 φυτρώνουν στην Ευρώπη ως γεώφυτα. (Αντωνόπουλος, 2009). Στην πατρίδα μας με το ευνοϊκό κλίμα και την κατάλληλη γεωμορφολογία του εδάφους, ζουν και ανθίζουν 130 είδη με υποείδη και ποικιλίες (Άλκιμος, 1988), κατέχει την πρώτη θέση στην Ευρώπη. Από αυτά το 1/3 είναι ενδημικά (δηλαδή φυτρώνουν μόνο στην Ελλάδα). Στην Κρήτη υπάρχουν 69 είδη και 4 υποείδη, από τα οποία 10 φυτρώνουν μόνο εκεί (Άλκιμος, 1988). Είναι ενδημικά φυτά, δηλαδή ιθαγενή, που φυτρώνουν μόνο σε μια περιοχή (Η τόλη της Κυριακής). Ένα από τα 10 είδη ορχιδέας που συναντά κανείς μόνο στον ορεινό όγκο της Κρήτης είναι η *Cephalanthera cucullata*. Στη χώρα μας υπάρχουν μόνο δύο μονάδες συστηματικής καλλιέργειας ορχιδέας σε θερμοκήπιο (υπαίθριες καλλιέργειες δεν μπορεί να γίνουν) οι οποίες βρίσκονται στη Σάμο. Τα γένη των ορχιδεών τα οποία καλλιεργούνται στη Σάμο είναι τα εξής: *Cymbidium*, *Cattleya*, *Phalaenopsis* και *Paphiopedillum* (Χρήστου, 2008).

Σε πολλά ευρωπαϊκά κράτη όλα τα είδη της οικογένειας των ορχεοειδών έχουν ταχθεί επίσημα σε προστασία. Δηλαδή, δεν επιτρέπεται να κόβονται, να ξεριζώνονται και να μεταφυτεύονται αλλού ούτε και για εμπόριο να χρησιμοποιούνται. Το να τίθεται όμως σε προστασία χωρίς καμιά εξαίρεση ολόκληρη οικογένεια φυτών, αυτό σημαίνει ότι τα φυτά αυτά είναι κάτι το ιδιαίτερο και πρέπει να κατέχουν ξεχωριστή θέση στο φυτικό περιβάλλον. Διάφορες υπηρεσίες ασχολούνται με το πρόβλημα των φυτών αυτών, πολλές ομάδες από φυσιολάτρες χαρτογραφούν και περιποιούνται τα φυτά αυτά και τέλος αρκετοί επιστήμονες εργάζονται με την σχετικά καινούργια αυτή οικογένεια φυτών. Όλοι ωστόσο οι επιστήμονες βοτανολόγοι, φυσιολάτρες και φίλοι των ορχεοειδών διαπίστωσαν μια αρνητική εξέλιξη των διαφόρων ειδών λόγω της αδιαφορίας και της μικρής μέριμνας για προστασία του φυσικού τοπίου και των βιότοπων. Ο Έλληνας δεν έχει συνειδητοποιήσει ακόμα την ανάγκη για προστασία

και διαφύλαξη των φυσικών μνημείων του περιβάλλοντος. Του λείπει η σωστή προβολή του προβλήματος και διαφώτιση από ειδικό προσωπικό.

Ξένοι ερευνητές διαπιστώνουν ότι στην Ελλάδα παρατηρείται υπερβόσκηση των ορεινών και ημιορεινών βοσκότοπων από τα οκτώ (8) εκατομμύρια περίπου ποιμενικά γίδια (Αλκιμος, 1988). Μια τέτοια εντατική υπερβόσκηση, που γίνεται πολλές φορές χωρίς κατά χώρο και χρόνο τάξη, προκαλεί αφ' ενός μεν συμπίεση του εδάφους από τα πατήματα, αφ' ετέρου δε απογύμνωση από τη βλάστηση με αποτέλεσμα να ακολουθήσουν διαβρώσεις εξ' αιτίας των βροχών. Σε τέτοιες παραφορτωμένες περιοχές είναι αδύνατον να φυτρώνουν και να πολλαπλασιάζονται ορχιδέες. Μια άλλη αιτία υποχώρησης των ορχεοειδών στον τόπο μας, είναι η ληστρική συλλογή του υπόγειου βολβού (πατατούλα) για φαρμακευτικούς σκοπούς για σαλέπι (σήμερα όχι τόσο πολύ) για παγωτά, για γεύση στα ποτά κ.λ.π. Αλλά και αυτοί που κάνουν συλλογή από αγριολούλουδα για τα ερμπάρια τους για μεταφύτευση στους κήπους των για επιστημονικούς σκοπούς κ.λ.π., βοηθούν στην υποχώρηση των ορχεοειδών σημαντικά. Σε μερικές περιοχές, κυρίως ημιορεινές, οι ορχιδέες πάσχουν όχι τόσο από το ξερίζωμα ή την υπερβόσκηση, όσο από τα φυτοφάρμακα και τα λιπάσματα που σκορπούν οι γεωργοί μας.

Οι σημερινοί γεωργοί στην Ελλάδα, οι περισσότεροι είναι και κτηνοτρόφοι, πράγμα που τους αναγκάζει να εκμεταλλεύονται και το τελευταίο κομμάτι γης που τους ανήκει. Εάν ο γεωργός ραντίζει τα χωράφια του με φυτοφάρμακα, εάν ρίχνει λιπάσματα και στα πιο φτωχά λιβάδια του (ξηρολίβαδα) εάν κάνει υπερβόσκηση και έτσι επιφέρει ζημιές στο περιβάλλον, δεν φταίει ο ίδιος, παρά η αλματώδης μηχανοποίηση και αυτοματισμός που του προκαλούν μια μεγάλη δυσαναλογία του κόστους παραγωγής και των τιμών της αγοράς των προϊόντων του. Αν και κατακρίνεται από πολλούς ότι επιφέρει ζημιές στους βιότοπους, από την άλλη μεριά όμως είναι ο μόνος που συμβάλλει με τα οργώματα, τα θερίσματα, τα κλαδέματα και γενικά την περιποίηση του κάμπου, στη διάπλαση και διαμόρφωση του φυσικού τοπίου. Άλλες ενέργειες που γίνονται αιτία να καταστρέφονται βιότοποι και να χάνονται διάφορα είδη από ορχιδέες είναι ο καθαρισμός και διάνοιξη (με φαγάνα) των ρυάκων εκατέρωθεν των δρόμων.

Πολλές φορές τα χαντάκια αυτά είναι υγρότοποι και συγχρόνως βιότοποι από διάφορες ορχιδέες (δακτυλόριζα) και από άλλα υδρόφυτα. Αλλά και μια άστοχη επέμβαση στη δασοσυστάδα (αποψίλωση, αραίωση, όργωμα, πυρκαγιά, εκχέρσωση κ.λ.π.) μπορεί να γίνει αιτία να υποχωρήσουν πολλά από τα είδη που φυτρώνουν στο δάσος, όπως είναι τα σαπρόφυτα είδη, το κεφαλάνθηρο, η επιπάκτις και άλλα. Άλλο φαινόμενο με αρνητικές επιπτώσεις για τα ορχεοειδή είναι τα αποστραγγιστικά μέτρα που έλαβαν και που λαμβάνουν χώρα στον τόπο μας. Βαλτώδεις τοποθεσίες, έλη, πηγές, υγρολίβαδα κ.λ.π. αποστραγγίζονται συχνά για περισσότερη γεωργική έκταση, για δρόμους, για οικόπεδα ή οτιδήποτε άλλο, αδιαφορώντας για τα σπάνια φυτά και ζώα που ζουν σε τέτοιους υγρότοπους. Όμως και τα εξαντλημένα ή εγκαταλειμμένα λατομεία έχουν γίνει βιότοποι από ορχιδέες και είναι ανάγκη να δώσουμε μεγαλύτερη σημασία και να τα προστατεύσουμε.

Σε όλους αυτούς τους κινδύνους που διατρέχουν τα ορχεοειδή της Ελλάδας, πρέπει να αναφερθεί δυστυχώς ότι όχι μόνο οι Έλληνες, αλλά και οι ξένοι τουρίστες κάνουν ληστρική συλλογή φυτών, βολβών, κ.λ.π. και τα παίρνουν μαζί τους. Μέτρα προστασίας πρέπει να ληφθούν στο μέλλον και να ελέγχονται από κρατικά όργανα οι ξένοι τουρίστες που περιφέρονται στην Ελληνική ύπαιθρο. Η γνώμη που υποστηρίζουν μερικοί φίλοι των ορχεοειδών, ότι οι βιότοποι με σπάνια και απειλούμενα φυτά ή ζώα πρέπει να τηρούνται μυστικοί για να μη συλλέγονται και καταστρέφονται από το κοινό, είναι εσφαλμένη. Πρέπει να συμβαίνει ακριβώς το



αντίθετο. Πρέπει τέτοιους βιότοπους να τους γνωρίζει όσο το δυνατόν περισσότερος κόσμος. Να γνωρίζει ότι στην Ελλάδα υπάρχουν είδη από φυτά και ζώα μοναδικά και σπάνια χωρίς μεγάλη αντοχή στις διάφορες ενέργειες του ανθρώπου και έχουν ανάγκη προστασίας.

## 2.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΡΧΙΔΕΑΣ ΤΩΝ *OPHRYS ORCHIS*

Οι *Ophrys*, όπως όλες οι ορχιδέες, είναι πολυετή ποώδη φυτά με λεπτοφυή βλαστό, ο οποίος συνήθως φέρει μια αραγή ταξιανθία με λίγα άνθη. Η δομή του φυτού, πλην του άνθους, σπάνια παραλλάσσει μεταξύ των ειδών και ως εκ τούτου δεν προσφέρει αναγνωριστικά στοιχεία. Στο ριζικό σύστημα υπάρχει κόνδυλος (βολβός) πλούσιος σε θρεπτικά συστατικά για να υποστηρίξει την ανάπτυξη του νεαρού φυτού του επομένου έτους. Στα φυτά του γένους *Ophrys*, όπως και σε όλες τις ορχιδέες που φέρουν κονδύλους, ο παλαιότερος εκ των δύο καταστρέφεται κατά την περίοδο της ανθοφορίας του φυτού, ενώ με την χειμερινή έκπτυξη των φύλλων και την φωτοσύνθεση αρχίζει η αποθήκευση θρεπτικών ουσιών σε νέο κόνδυλο. Αυτός θα διατηρηθεί την επόμενη χρονιά και θα πάρει τη θέση του παλαιότερου.

Τα φύλλα είναι τοποθετημένα στην βάση και απλώνονται στο έδαφος σχηματίζοντας τη βασική <<ροζέτα>>, ενώ μερικές φορές τα 1-2 ανώτερα περικλείουν τη βάση του βλαστού ανερχόμενα παράλληλα μ' αυτόν. Ο βλαστός έχει συνήθως κοντό ύψος στα περισσότερα είδη 10-30εκ (με διακύμανση από 5 ως 90εκ σε μερικές περιπτώσεις) (Αντωνόπουλος, 2009). Όπως σε όλες τις ορχιδέες, το άνθος των *Ophrys* εμφανίζει κατοπτρική συμμετρία όσον αφορά τον οβελιαίο άξονα του άνθους. Καθ' ομοίωση των ανθέων των κρινοειδών (*Liliaceae*), το περιάνθιο (περιγόνιο) των *Ophrys* αποτελείται από δύο κύκλους, εξωτερικό και εσωτερικό που μετασχηματίστηκαν αντίστοιχα στα σέπαλα και στα πέταλα. Το κοιλιακό (κατώτερο) σέπαλο έχει διαφοροποιηθεί αρκετά σε όλα τα ορχεοειδή και ονομάζεται χείλος ή γλωσσάριο (*Labellum*). Σε πολλά είδη το χείλος εμφανίζεται ισχυρά διαφοροποιημένο και αποτελεί κατά την ανθοφορία την <<πλατφόρμα>> στην οποία επικάθεται το έντομο κατά τη διαδικασία της επικονίασης.

Τα αναπαραγωγικά όργανα του άνθους των *Ophrys* και γενικά των υποοικογενειών *Orchidoideae* και *Epidendroideae* προήλθαν από την εξέλιξη ενός γόνιμου στήμονα κάποιου προγονικού είδους *Liliaceae*. Το στίγμα και ο στύλος του υπέρου έχουν συνενωθεί με το γόνιμο στήμονα σε ένα ειδικό όργανο, με τη μορφή μικρής στήλης (*Column*) που είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των ορχεοειδών και λέγεται γυνοστήμιο (*Gynostegium*). Το γυνοστήμιο βρίσκεται πάνω από την (υποφυή) ωοθήκη που δε συμμετέχει στο σχηματισμό του. Οι ανθήρες των *Ophrys* δεν γυρεοβολούν, γιατί οι γυρεόκοκκοι κάθε γυρεόσακκου είναι συνήθως ενωμένοι με κολλώδη-ιξώδη ουσία και σχηματίζουν κορυνοειδείς σχηματισμούς που ονομάζονται γυρεομάγματα ή πολλινία (*Pollinia*).

Τα γυρεομάγματα έχουν (στις περισσότερες περιπτώσεις) στη βάση τους μικρούς ποδίσκους (*Caudicle*) που κατεβαίνοντας καταλήγουν και συνενώνονται με τους ιξώδεις αδένες (*Retinicle*). Η συνολική κατασκευή του γυρεομάγματος με τον ποδίσκο και τον ιξώδη αδένα ονομάζεται πολλινάριο. Οι ποδίσκοι των γυρεομαγμάτων καταλήγουν και ενώνονται με μικρούς, ιξώδεις, δισκοειδείς αδένες που περικλείονται σε μικρά σακίδια-θυλακίδια (*Bursicle*). Θεμελιώδης ιδιότητα των θυλακιδίων είναι η παραγωγή κολλώδους-ιξώδους ουσίας με την οποία οι ποδίσκοι (και επομένως τα γυρεομάγματα) προσκολλώνται στο κεφάλι ή την κοιλιά των εντόμων-επικονιαστών κατά την ψευδοσυνουσία και έτσι γίνεται η μεταφορά τους

προς επικονίαση. Τα τρία σέπαλα, λόγω της σταυρωτής τους διάταξης χωρίζονται σε ραχιαίο και στα δύο πλευρικά (πλαινά). Το ραχιαίο σέπαλο είναι όρθιο στις περισσότερους *Euophrys* και πάντοτε εμφανίζει πρόσθια κάμψη, με αποτέλεσμα να καλύπτει το γυνοστήμιο, σε όλες τις *Pseudophrys*. Τα πλαινά είναι συμμετρικά μεταξύ τους και είναι άλλοτε μονόχρωμα, άλλοτε δίχρωμα με το κατώτερο ημιμόριό τους σκουρόχρωμο-ιώδες. Τα πέταλα είναι σαφώς μικρότερα, μερικές φορές μικροσκοπικά, συνήθως τριχωτά και μερικές φορές με κυματοειδείς παρυφές και σχεδόν πάντα ελαφρώς σκουρότερα από τα σέπαλα.

Στο γένος *Orchis* τα είδη του γένους αυτού, όπως και όλης της οικογένειας των ορχεοειδών είναι φυτά πολυετή, των οποίων το ύψος κυμαίνεται από 10 έως 120 εκατοστά. Η ρίζα των φυτών αποτελείται από 2 ή 3 βολβούς (πατατούλες) που μπορεί να είναι στρογγυλοί ή να έχουν το σχήμα του αβγού. Τα φύλλα διαφέρουν από είδος σε είδος ως προς το σχήμα (λογχοειδή, στενόμακρα, ωοειδή) και στο εάν έχουν κηλίδες ή όχι. Τα άνθη των φυτών μπορεί να είναι πολλά και πυκνά σε είδος στάχυ στο στέλεχος ή αραιά και λίγα. Τα πέταλα και σέπαλα μπορεί να είναι προς τα πλάγια απλωμένα ή να συγκλίνουν σε είδος κουκούλας. Το χείλος του άνθους μπορεί να έχει και αυτό σχισμές, σχηματίζοντας λοβία 2 ή 3 ή μπορεί να έχει παρυφές οδοντωτές ή ίσιες. Τα τμήματα του περιανθίου είναι ίσα (μερικές φορές τα εσωτερικά είναι μικρότερα), συγκλίνουν και σχηματίζουν μία κατασκευή που μοιάζει με κράνος. Το γλωσσάριο είναι προεξέχον ή ελαφρώς στραμμένο προς τα κάτω.

Για την εκπόνηση της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω είδη του γένους *Orchis*: α) *Orchis italica* (ορχιδέα η Ιταλική ή Λιμπάρτζα): το ύψος του φυτού μπορεί να φθάσει τους 40 πόντους. Τα φύλλα του είναι λογχοειδή με κυματοειδείς παρυφές και με κηλίδες ή όχι. Τα σέπαλα και τα πλαινά πέταλα συγκλίνουν σε είδος κουκούλας. Το χείλος του χωρίζεται σε τρία λοβία, όπου τα δύο πλαινά είναι πολύ λεπτά και αρκετά μακριά. Το μεσαίο λοβίο είναι και αυτό πάλι σε δύο λεπτά μέρη χωρισμένο με μια μικρή προεξοχή ανάμεσά τους. Το χρώμα του χείλους είναι άσπρο με κόκκινα στίγματα. Ανθίζει Μάρτη με Απρίλη και φυτρώνει σε ξερολίβαδα, ανάμεσα σε πουρνάρια και σε φωτεινά δάση. Προτιμά ασβεστολιθικά εδάφη και τη βρίσκουμε σε όλη την Ελλάδα (εκτός από τη Μακεδονία) σε υψόμετρο μέχρι και 1200 μέτρα. β) *Orchis papilionacea* (ορχιδέα η χρυσάλις-σαρκινοβότανο): είναι ορχιδέα με ύψος 20 έως 40 εκατοστά και με φύλλα 6 έως 9 τον αριθμό σε σχήμα λόγχης. Το άνθος που έχει χρώμα πορφυρό, σπάνια άσπρο, μοιάζει με πεταλούδα, όπως λέει και το όνομα. Το χείλος, που έχει χρώμα ροζ έως πορφυρό, έχει τις παρυφές του οδοντωτές έως κυματώδεις. Το πλήκτρο είναι κοντότερο από τον μίσχο του. Ανθίζει το Μάρτη με Απρίλη και το βρίσκουμε σε εδάφη με βασική έως ελαφρά όξινη αντίδραση.

Όλα τα είδη φέρουν πλήκτρο με διαφορετικό μήκος και πάχος. Στην Ελλάδα μέχρι τώρα έχουν προσδιοριστεί 18 γένη ([www.greekorchids.gr](http://www.greekorchids.gr)). Αυτά είναι: *Cypripedium*, *Cephalanthera*, *Epipactis*, *Limodorum*, *Epipogium*, *Neottia*, *Spiranthes*, *Goodyera*, *Corallorrhiza*, *Platanthera*, *Gymnadenia*, *Coeloglossum*, *Dactylorhiza*, *Serapias*, *Anacamptis*, *Orchis*, *Himantoglossum*, *Ophrys*.

## 2.3 Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

Η καλλωπιστική αξία των ορχιδέων τις κατατάσσει στη λίστα με τα πιο εμπορεύσιμα φυτά και λόγω του εύκολου υβριδισμού τους, τα τεχνηώς αναπαραχθέντα υβρίδια είναι από τα πιο δημοφιλή της αγοράς. Επίσης, η ρίζα ορισμένων ειδών του γένους *Orchis* χρησιμοποιείται για την παρασκευή του σαλεπιού, ενώ πολλά είδη χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία.

Πολλή σημαντική είναι η χρήση τους και στη βιομηχανία των καλλυντικών και στη φαρμακοβιομηχανία καθώς τα φάρμακα που φτιάχνονται από αυτά μπορεί να είναι από απλά αντιπυρετικά, αντιφλεγμονώδη έως και αντικαρκινικά. Συγκεκριμένα έχει ανακαλυφθεί ότι η μαύρη ορχιδέα έχει αντιοξειδωτική δύναμη συγκρίσιμη με εκείνη του πράσινου τσαγιού ([www.vita.gr](http://www.vita.gr)). Καταπολεμά τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύει το δέρμα από περιβαλλοντικούς παράγοντες που το ταλαιπωρούν. Διεγείρει τις ίνες του κολλαγόνου και της ελαστίνης και μειώνει την εμφάνιση των λεπτών γραμμών. Έχει διαπιστωθεί επίσης ότι η λευκή ορχιδέα μπορεί να ρυθμίσει τη μικροκυκλοφορία και να συμβάλλει στην ενυδάτωση της επιδερμίδας.

Η ορχιδέα συμβολίζει την πολυτέλεια και σήμερα αυτή η αίσθηση της μεγαλοπρέπειας και του μεγαλείου συνεχίζει να υπάρχει. Αντιπροσωπεύουν την σπάνια και την λεπτή ομορφιά.

## 2.4 ΟΙ ΣΠΟΡΟΙ ΤΩΝ ΟΡΧΕΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΤΟ ΦΥΤΡΩΜΑ

Τα ορχεοειδή πολλαπλασιάζονται στη φύση μόνο με σπόρους καθώς ο νέος βολβός απλώς διαιωνίζει το φυτό. Οι σπόροι αυτών των φυτών είναι μικροσκοπικοί, σχεδόν σαν σκόνη και βρίσκονται σε κάψες κατά χιλιάδες ή και εκατομμύρια. Μια κάψα μπορεί να περιέχει μέχρι και 4.000.000 μικροσκοπικούς σπόρους (Χρήστου, 2008). Οι σπόροι αυτοί χαρακτηρίζονται από την έλλειψη ενδοσπερμίου και συχνά καλούνται <<γυμνοί σπόροι>>. Ειδικοί που ασχολήθηκαν με τις ορχιδέες κατάφεραν να μετρήσουν και να ζυγίσουν τους σπόρους από διάφορα είδη. Για παράδειγμα η ορχιδέα *Epipactis maculata* περιλαμβάνει περί τους 6200 σπόρους σε μια κάψα. Η ορχιδέα *Himantoglossum hircinum* περιλαμβάνει γύρω στα 1200 σπόρια με ένα μέγεθος από 0,2 έως 0,16 χιλιοστά (Αλκιμος, 1988).

Ο φυσιοδίφης Κάρολος Δαρβίνος στο βιβλίο που έγραψε γύρω από την γονιμοποίηση των ορχεοειδών το 1862, βρήκε ότι σε μια κάψα του τροπικού είδους *Maxillaria* υπήρχαν 1.754.405 σπόροι (Αλκιμος, 1988). Με το μικρό βάρος που έχουν οι σπόροι των φυτών αυτών μπορούν να παρασυρθούν εύκολα από τον αέρα και να μεταφερθούν μέχρι και 150 χιλιόμετρα μακριά.

Το φύτεμα και η παραπέρα ανάπτυξη του σπόρου γίνεται με τη βοήθεια των ριζομυκήτων. Ο μύκητας εισβάλλει στον σπόρο μέσα από ειδικά κύτταρα και τροφοδοτεί το έμβρυο του σπόρου με υγρασία και θρεπτικές ουσίες. Τη συμβίωση αυτή των ορχεοειδών και γενικά το φύτεμα των σπόρων με τέτοιους ριζομύκητες, την ανακάλυψε ο Γάλλος βοτανολόγος Noel Bernard την οποία και δημοσίευσε το 1904. Όλα τα σπόρια που παράγονται από τα φυτά και πέφτουν στο έδαφος δεν τα καταφέρνουν να φυτρώσουν, διότι δεν υπάρχουν παντού τέτοιοι μύκητες κατάλληλοι για συμβίωση. Εκτός αυτού πρέπει να υπάρχει η κατάλληλη θερμοκρασία, υγρασία και φως. Αλλά και από αυτά που τυχόν φύτεψαν θα αργήσουν πολύ να αναπτυχθούν και να ανθίσουν.

Παρατηρήσεις και πειράματα που έχουν γίνει μας πληροφορούν ότι η ορχιδέα *Cypripedium calceolus* μετά από 4 χρόνια βγάζει το πρώτο πράσινο φυλλαράκι της και άλλα 11 χρόνια θα περάσουν ώπου να ανθίσει. Όμως και η ορχιδέα *Orchis ustulata* ανθίζει στα 12 ή 13 της χρόνια. Το ίδιο και η *Dactylorhiza maculata*, *Dactylorhiza incarnata* και η *Dactylorhiza magalis* χρειάζονται πάνω από 10 χρόνια για να ανθίσουν. Οι σπόροι ορισμένων ωστόσο ορχεοειδών μπορεί να περιέχουν περισσότερες αποθησαυριστικές ουσίες.

Εκεί που νομίζουμε, ότι ένα είδος χάθηκε από κάποιο βιότοπο, μπορεί μετά από 5 ή 10 χρόνια (εφόσον δεν άλλαξαν οι συνθήκες) να ξαναεμφανιστεί. Σε μερικά είδη το άνοιγμα (σκάσιμο) της κάψας εξαρτάται και από τις καιρικές συνθήκες. Στο



εσωτερικό μέρος της κάψας υπάρχουν μικρές τρίχες που λειτουργούν σαν υγροσκοπικά ελατήρια. Όταν η υγρασία του αέρα μεγαλώσει, αρχίζουν να κινούνται και να ασκούν πίεση αναγκάζοντας την κάψα να ανοίξει και να εκσφενδονισθούν οι σπόροι προς τα έξω. Από το έμβρυο, που αναπτύχθηκε και βγήκε από τη μεμβράνη, αρχίζει και μεγαλώνει ένας βολβός με φύτρο στην αρχή και αργότερα με ρίζες και φύλλα. Το φυτό ξεχειμωνιάζει με δύο βολβούς. Το καλοκαίρι ο ένας χάνεται και μεγαλώνει ο καινούργιος.

## 2.5 ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ

Η μορφή και η σύσταση των σπόρων παρουσιάζει μεγάλες διαφοροποιήσεις ανάλογα με την τάξη ή την οικογένεια αλλά σε κάθε περίπτωση η βασική δομή του σπόρου περιλαμβάνει: το έμβρυο, τις αποθησαυριστικές ουσίες και το σπερματικό περίβλημα ή κέλυφος. Τα αγγειόσπερμα έχουν αναπτύξει ένα πολύπλοκο μηχανισμό διπλής γονιμοποίησης κατά τον οποίο το ένα αρσενικό κύτταρο ενώνεται με το ωοκύτταρο του θηλυκού γενετικού κυττάρου (μακρογαμετόφυτο ή εμβρυόσακκος) για τη δημιουργία του εμβρύου, ενώ το δεύτερο αρσενικό κύτταρο ενώνεται με το διπλοειδή πυρήνα του θηλυκού γενετικού κυττάρου για τη δημιουργία του ενδοσπερμίου το οποίο έχει αποταμειωτικό ρόλο και είναι τριπλοειδές (3n, τα 2/3 του γονιδιώματος προέρχονται από το θηλυκό γενετικό κύτταρο) (Χα, 2007).

Σε κάποια είδη, κατά την ανάπτυξη του εμβρύου, το ενδοσπέρμιο σχεδόν εκφυλίζεται και οι κοτυληδόνες ουσιαστικά αποτελούν τα μοναδικά όργανα αποθήκευσης θρεπτικών συστατικών. Στα γυμνόσπερμα, ο αποταμειωτικός ιστός προέρχεται μόνο από το θηλυκό γενετικό κύτταρο (1n). Σε κάποια είδη το ενδοσπέρμιο περιβάλλεται ή υποκαθίσταται από το περισπέρμιο, το οποίο έχει επίσης αποταμειωτικό ρόλο, ενώ εξωτερικά βρίσκεται το σπερματικό περίβλημα ή κέλυφος.

Το έμβρυο αποτελεί μικρογραφία φυτού και αποτελείται από: τις κοτυληδόνες (με αποταμειωτικό ρόλο). Μία στα μονοκοτυλήδονα (συνήθως αναφέρεται ως ασπίδιο), δύο στα δικοτυλήδονα και δύο ή περισσότερες στα γυμνόσπερμα, τον εμβρυικό άξονα με δύο πόλους ανάπτυξης, τοποθετημένους αντιδιαμετρικά, το ριζίδιο (κολεόριζο στα μονοκοτυλήδονα) – αρχέφυτρο ρίζας και το βλαστίδιο ή περίδιο (κολεόπιλο στα μονοκοτυλήδονα) – αρχέφυτρο βλαστού. Το τμήμα του εμβρυικού άξονα μεταξύ των κοτυληδόνων και του ριζιδίου ονομάζεται υποκοτύλιο και το τμήμα του εμβρυικού άξονα άνω του σημείου επαφής με τις κοτυληδόνες ονομάζεται επικοτύλιο.

## 2.6 ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ

Για την τεχνολογία σπόρου η ζωτικότητα αναφέρεται ως η ικανότητα του σπόρου να βλαστήσει και να παράγει ένα φυσιολογικό φυτό. Από πλευράς φυσιολογίας η ζωτικότητα ορίζεται απλά ως η εμφάνιση της προεξοχής του ριζιδίου από το περίβλημα του σπόρου, ένδειξη που δηλώνει αν ένας σπόρος είναι ζωντανός ή όχι (Χα, 2007). Ο ορισμός που δόθηκε από τον AOSA (American Organization of Seed Association), 1983, αναφέρει ότι η ζωτικότητα του σπόρου περιλαμβάνει εκείνες τις ιδιότητες του σπόρου, οι οποίες καθορίζουν τη δυναμική για γρήγορο, ομοιόμορφο φύτρωμα, καθώς και ανάπτυξη των νεαρών φυτών κάτω από ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος μέτρησης της ευρωστίας του σπόρου μέχρι το 1950 ήταν το τεστ ψύχους και σκοπός του ήταν η εκτίμηση της ποιότητας του σπόρου του καλαμποκιού.

Η ζωτικότητα των σπόρων ουσιαστικά είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που καθορίζει τη φυτρωτική τους ικανότητα. Είτε χρησιμοποιήσουμε τους σπόρους αμέσως μετά τη συλλογή τους είτε μετά από αποθήκευσή τους, είναι σκόπιμο να ελεγχθεί η ζωτικότητά τους. Η ζωτικότητα των σπόρων μπορεί να ελεγχθεί είτε:

- α) Κατά τη συλλογή των σπόρων
- β) Κατά την παραλαβή τους
- γ) Μετά την εξαγωγή των σπόρων
- δ) Πριν τη σπορά του

Οι μέθοδοι ελέγχου της ζωτικότητας των σπόρων κατατάσσονται από πολύ απλές μέχρι σύνθετες που απαιτούν ειδικό εξοπλισμό. Η ζωτικότητα των σπόρων μπορεί να ελεγχθεί με τους εξής τρόπους:

α) Με κόψιμο του σπόρου και έλεγχο των διαφορετικών τμημάτων των σπόρων

β) Με δοκιμαστική σπορά μικρής ποσότητας σπόρου

γ) Με τη δοκιμή του τετραζολίου (2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride). Χρησιμοποιούμε διάλυμα τετραζολίου συγκέντρωσης 1% σε νερό pH 6,5-7,0. Οι σπόροι αρχικά ενυδατώνονται σε νερό για 24 ώρες και στη συνέχεια βυθίζονται στο παραπάνω διάλυμα του τετραζολίου στο σκοτάδι για άλλες 24 ώρες σε θερμοκρασίες 21-30 βαθμούς κελσίου. Όσοι από τους σπόρους είναι ζωντανοί και αναπνέουν βάφονται κόκκινοι, λόγω της παραγωγής της κόκκινης αδιάλυτης triphenyl formazan (Vujanovic et al., 2000). Βέβαια πολλές φορές οι σπόροι βάφονται κόκκινοι κατά περιοχές, πράγμα που δυσκολεύει την εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Σύμφωνα με τους διεθνείς κανόνες, πρέπει να ελέγχονται με αυτόν τον τρόπο από κάθε παρτίδα σπόρων τέσσερις ομάδες των 100 σπόρων.

δ) Με τη μέθοδο των εξαγομένων εμβρύων, όπου τα έμβρυα εξάγονται από τους σπόρους και τοποθετούνται σε υγρό διηθητικό χαρτί σε θερμοκρασίες που ευνοούν το φύτρωμα του είδους (συνήθως 18-20 βαθμούς κελσίου) και ελέγχονται μετά από 10-14 ημέρες για τη διαπίστωση δραστηριότητας (φούσκωμα, ανάπτυξη ριζιδίου κτλ).

ε) Με χρήση ακτίνων Χ, που όμως απαιτεί ακριβό εξοπλισμό.

## 2.7 ΤΕΣΤ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Οι κύριες προϋποθέσεις για τα τεστ βλαστικότητας είναι: 1) να είναι αντικειμενικά, γρήγορα και όχι δαπανηρά, 2) να υπάρχει ακριβής ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Οι δύο βασικοί φορείς που έχουν αναπτύξει επίσημους κανόνες καθορισμού της βλαστικότητας των σπόρων είναι ο ISTA και ο AOSA. Το τεστ βλαστικότητας είναι μία δύσκολη εργασία και καθόλου αντικειμενική, αφού μόνο ένα κομμάτι της εργασίας βασίζεται σε αντικειμενικές εκτιμήσεις του σπόρου. Ο υπεύθυνος επιστήμονας θα πρέπει να αποφασίσει μέσω ορισμένων κανόνων και της εμπειρίας του, αν ένα φυτάριο είναι φυσιολογικό ή μη. Ο ISTA αναφέρει τρεις κατηγορίες φυσιολογικών φυταρίων, καθώς και λίστα με μη αποδεκτά γνωρίσματα

ως προς την αρχική ρίζα, την υποκοτύλη, τη μεσοκοτύλη, τις κοτυληδόνες και τα αρχικά φύλλα. Διάφοροι μέθοδοι καθορισμού της βιωσιμότητας του σπόρου ξεκίνησαν από τα μέσα του 20<sup>ου</sup> αιώνα με πιο δημοφιλές το τεστ του τετραζολίου (TZ). Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι όταν το άχρωμο χλωριούχο ή βρωμιούχο τριφενιτετραζόλιο εισχωρήσει στους ζωντανούς ιστούς του φυτού, τους χρωματίζει κόκκινους (Vujanovic et al., 2000). Η ακρίβεια του τεστ TZ εξαρτάται από τα προσόντα του υπεύθυνου αναλυτή. Το μεγάλο πλεονέκτημα του τεστ TZ είναι ότι δίνει γρήγορα αποτελέσματα σε σχέση με άλλες μεθόδους. Στο καλαμπόκι (*Zea mays* L.) το τεστ TZ χρειάζεται 24 ώρες, ενώ το τεστ βλαστικότητας επτά ημέρες. Το συγκεκριμένο τεστ έχει δεχθεί κριτικές για τις διαδικαστικές και ερμηνευτικές δυσκολίες του, την αδυναμία του να ανιχνεύσει φυτοτοξικότητα, ηλιακά εγκαύματα, μυκητολογικές προσβολές και λήθαργο.

## 2.8 ΤΕΧΝΙΚΗ ΧΡΩΣΗΣ ΜΕ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟ (2,3,5 TRIPHENYL TETRAZOLIUM)

Το τετραζόλιο είναι μια ουσία που χρησιμοποιείται στον έλεγχο της βλαστικής ικανότητας των σπόρων. Χρησιμοποιείται με τη μορφή υδατικού διαλύματος. Στο διάλυμα αυτό εμβαπτίζονται σπόροι, οπότε το τετραζόλιο αντιδρά με το ένζυμο αφυδρογονάση που βρίσκεται στους ιστούς και το χρώμα των σπόρων γίνεται κόκκινο (Vujanovic et al., 2000). Το ένζυμο αφυδρογονάση είναι ενεργό μόνο στους ζωντανούς ιστούς. Για το λόγο αυτό οι νεκροί ιστοί δεν χρωματίζονται. Τα ζωντανά έμβρυα χρωματίζονται κόκκινα και αυτό δεν έχει καμία αρνητική επίπτωση γιατί αποκτώνται κανονικά φυτά. Υπάρχει η πιθανότητα να χρωματισθεί ένα μέρος του εμβρύου. Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι το τμήμα που θα χρωματισθεί παραμένει ζωντανό (π.χ. το βλαστίδιο), ενώ το τμήμα που δεν έχει χρωματισθεί είναι νεκρό (π.χ. το ριζίδιο) (Vujanovic et al., 2000). Για κάθε φυτικό είδος υπάρχει ένας συγκεκριμένος χρωματισμός, τον οποίο θα πρέπει να γνωρίζει αυτός που κάνει τον έλεγχο της βλαστικής ικανότητας. Στις περιπτώσεις εκείνες που η βλαστική ικανότητα του σπόρου είναι υψηλή, τα αποτελέσματα της μεθόδου του τετραζολίου και της μεθόδου του προβλαστηρίου συμπίπτουν ικανοποιητικά. Όταν όμως η βλαστική ικανότητα του δείγματος είναι χαμηλή, τότε τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων διαφέρουν, με αυτά της μεθόδου του τετραζολίου να είναι λιγότερο αξιόπιστα. Οι σπόροι που βρίσκονται σε λήθαργο χρωματίζονται το ίδιο με όσους δεν είναι. Από αυτά που αναφέρθηκαν έως τώρα προκύπτει ότι η μέθοδος του τετραζολίου είναι φτωχή ως προς τα αποτελέσματά της γιατί διακρίνει δύο μόνο κατηγορίες σπόρων: χρωματισμένους και αχρωμάτιστους. Επίσης, δεν μπορεί να γίνει με τη μέθοδο αυτή διάκριση ως προς την κανονικότητα της ανάπτυξης. Τα προβληματικά έμβρυα που θα αναπτυχθούν σε παραμορφωμένα φυτά χρωματίζονται κόκκινα και μπορεί να ληφθούν για κανονικά. Η παρουσία ζωντανών μικροοργανισμών στο άμεσο περιβάλλον του εμβρύου, είναι δυνατό να προκαλέσουν κόκκινο χρωματισμό. Τέλος, αν οι σπόροι έχουν νεκρωθεί από υπερθέρμανση κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, υπάρχει περίπτωση η αφυδρογονάση να παραμείνει για ένα μικρό χρονικό διάστημα ενεργή, να αντιδράσει και οι σπόροι να χρωματισθούν κόκκινοι. Από την άλλη πλευρά, το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η ταχύτητα ελέγχου της βλαστικής ικανότητας. Σε κανονική θερμοκρασία ο έλεγχος ολοκληρώνεται σε 24 ώρες. Όμως, αν η θερμοκρασία αυξηθεί, τότε ο έλεγχος ολοκληρώνεται σε λίγες ώρες. Μια τελευταία χρήση της μεθόδου του τετραζολίου είναι να ελεγχθεί αν οι σπόροι που δεν βλάστησαν με τη μέθοδο του προβλαστηρίου είναι νεκροί ή είναι σε λήθαργο.



## 2.9 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ

### 2.9.1 Υπέρηχος

Ο υπέρηχος είναι μια πολύ χρήσιμη συσκευή για τον εξοπλισμό του εργαστηρίου και χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς. Ένας από αυτούς τους σκοπούς είναι η χρησιμοποίησή του στα εργαστήρια για τη λύση βακτηρίων ή κυττάρων ζύμης αλλά μόνο για μικρές ποσότητες βιολογικού υλικού ([www.hielscher.com](http://www.hielscher.com)). Υπερήχηση είναι η διαδικασία της μετατροπής ενός ηλεκτρικού σήματος σε μια φυσική δόνηση που μπορεί να κατευθυνθεί προς μια ουσία. Η δόνηση έχει μια πολύ ισχυρή επίδραση που οδηγεί στο σπάσιμο των περιστερμίων των σπόρων. Το πρώτο τμήμα του υπέρηχου είναι η ηλεκτρική γεννήτρια. Η συσκευή δημιουργεί ένα σήμα συνήθως περίπου 20 khz που τροφοδοτεί ένα μετατροπέα (Yaldagard et al., 2008). Αυτός ο μετατροπέας μετατρέπει το ηλεκτρικό σήμα χρησιμοποιώντας πιεζοηλεκτρικούς κρυστάλλους ή κρυστάλλους που ανταποκρίνονται απευθείας στο ηλεκτρικό ρεύμα δημιουργώντας μια μηχανική δόνηση. Αυτή η δόνηση συντηρείται προσεκτικά και ενισχύεται από τον υπέρηχο μέχρι να περάσει μέσα από τον ανιχνευτή.

Ο ανιχνευτής μεταδίδει τη δόνηση στο διάλυμα που υφίσταται κατεργασία με υπέρηχο. Ο ανιχνευτής είναι ένα προσεκτικά κατασκευασμένο εξάρτημα που κινείται σε συγχρονισμό με τη δόνηση που μεταδίδει στο διάλυμα. Ο ανιχνευτής κινείται πάνω κάτω σε πολύ υψηλή ταχύτητα, ενώ το πλάτος μπορεί να επιλέγεται από τον χειριστή με βάση τις ιδιότητες του διαλύματος που υφίσταται κατεργασία με υπέρηχο. Η ταχεία κίνηση του ανιχνευτή δημιουργεί ένα αποτέλεσμα που ονομάζεται σπηλαιώση ([www.hielscher.com](http://www.hielscher.com)). Αυτή συμβαίνει όταν οι δονήσεις δημιουργούν μια σειρά από μικροσκοπικές φυσαλίδες στο διάλυμα. Χιλιάδες από αυτές τις φυσαλίδες που σχηματίζονται δημιουργούν ισχυρά κύματα δόνησης με αποτέλεσμα να σπάει το περισπέρμιο των σπόρων με μηχανικό τρόπο.

### 2.9.2 Υποχλωριώδες Ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$

Το υποχλωριώδες ασβέστιο είναι μια χημική ένωση με χημικό τύπο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ . Είναι μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους απολύμανσης των σπόρων. Έχει τη δυνατότητα να σπάει το περισπέρμιο των σπόρων με χημικό τρόπο. Η χημική ένωση είναι επίσης γνωστή και με την ονομασία λευκαντική σκόνη. Το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  είναι μια κιτρινωπή-λευκωπή σκόνη η οποία είναι εύκολα διαλυτή κυρίως στο απιονισμένο νερό. Η περιεκτικότητα σε χλώριο κυμαίνεται από 65-70% ([www.aliaswater.com](http://www.aliaswater.com)). Η ποσότητα που χρησιμοποιείται γενικά για την απολύμανση των σπόρων είναι 4-10 gr/100ml υποχλωριώδους ασβεστίου  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  (Chawla H. S., 2002). Το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  χρειάζεται περισσότερο χρόνο για να εισέλθει στους ιστούς του φυτού ή του σπόρου σε σχέση με άλλες χημικές μεθόδους απολύμανσης. Μπορεί να δράσει μόνο για περιορισμένη χρονική περίοδο εξαιτίας του υγροποιημένου περιβάλλοντος καθώς οι σπόροι με την πάροδο του χρόνου απορροφούν νερό.

Το διάλυμα του υποχλωριώδους ασβεστίου  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  είναι κίτρινου χρώματος με πολύ χαρακτηριστική και έντονη οσμή χλωρίνης. Έχει δύο μορφές την ξηρή και την ένυδρη. Η ένυδρη μορφή είναι πιο ασφαλής για επεξεργασία. Το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  είναι καλύτερα να διατηρείται σε δροσερό και ξηρό μέρος μακριά από οποιαδήποτε οργανική ύλη. Είναι γνωστό ότι υφίσταται αυτόνομη θέρμανση και ταχεία αποσύνθεση που συνοδεύεται από την απελευθέρωση τοξικών αερίων

χλωρίου. Σε συμπυκνωμένη μορφή είναι διαβρωτικό για τα μάτια και το δέρμα και μπορεί να προκαλέσει εγκαύματα σε σύντομο χρονικό διάστημα από την έναρξη της έκθεσης. Σε αραιωμένη μορφή το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  δεν δημιουργεί κανέναν σημαντικό κίνδυνο για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Δεν προξενεί βλάβες στο γενετικό υλικό και επομένως δεν είναι μεταλλαξιογόνο ούτε είναι καρκινογόνο.



## **Κεφάλαιο 3 . Υλικά και Μέθοδοι**

### 3. Υλικά και Μέθοδοι

#### 3.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΤΡΙΒΛΙΑ

Η διαχείριση των σπόρων της γεωφυτικής ορχιδέας *Orchis italica* έγινε σε 10 γυάλινα τριβλία διαμέτρου 10 cm και σε 10 γυάλινα τριβλία 5 cm. Για το σκοπό αυτό τοποθετήθηκε στη βάση των τριβλίων διηθητικό χαρτί watman No 2 διαμέτρου 10 και 5 cm αντίστοιχα. Κάθε τριβλίο περιείχε αρχικά 20 σπόρους μαζί με 10 και 5 ml νερού αντίστοιχα. Τα τριβλία παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου για 24 ώρες και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση σε γυάλινο κώνο με διηθητικού χαρτιού watman 90 mm. Μετά τη συλλογή των σπόρων έγινε η πρώτη μεταφορά τους σε τριβλία ίδιας διαμέτρου, δηλαδή 10 cm και 5 cm με 10 και 5 ml νερού αντίστοιχα και στη συνέχεια παρατήρηση και καταμέτρηση των σπόρων στο στερεοσκόπιο. Τα τριβλία παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου για άλλες 24 ώρες και στη συνέχεια επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία άλλες δύο φορές. Μετά τη τελευταία μεταφορά οι σπόροι κάθε τριβλίου συλλέχτηκαν τελικά με τη βοήθεια διηθητικού χαρτιού watman No 2 και μετρήθηκε ο τελικός αριθμός από την κάθε μεταχείριση. Συνολικά έγιναν τρεις μεταφορές των σπόρων στα μεγάλα και στα μικρά γυάλινα τριβλία διαμέτρου 10 και 5 cm αντίστοιχα. Στη πρώτη μεταφορά τοποθετήθηκαν οι σπόροι μέσα στα τριβλία στη δεύτερη μεταφορά έγινε η απολύμανσή τους με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  2%, ενώ τέλος στη τρίτη έγινε η έκπλυσή τους με απιονισμένο νερό και η συλλογή τους με τη βοήθεια διηθητικού χαρτιού watman No 2 σε νέα μεγάλα και μικρά γυάλινα τριβλία διαμέτρου 10 και 5 cm αντίστοιχα που περιείχαν διηθητικό χαρτί watman No 2 διαμέτρου 10 και 5 cm αντίστοιχα και ακολούθησε η καταμέτρησή τους στο στερεοσκόπιο.

#### 3.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΣΩΛΗΝΑΚΙΑ

Σε 10 πλαστικά διαφανή σωληνάκια πολυαιθυλενίου μήκους 10 cm που περιείχαν στη μία τους άκρη φίλτρο filter tips rizzla τοποθετήθηκαν 200 σπόροι από επίγεια ορχιδέα *Orchis italica*. Τα σωληνάκια ξεπλύθηκαν καλά με αρκετή ποσότητα απιονισμένου νερού και στη συνέχεια τοποθετήθηκε και δεύτερο φίλτρο στην άλλη άκρη τους έτσι ώστε να δημιουργηθεί ένας κενός χώρος ανάμεσα στα δύο φίλτρα όπου υπήρχαν οι σπόροι. Ο χώρος αυτός γεμίστηκε με απιονισμένο νερό το οποίο απομακρύνθηκε μέσω του φίλτρου και ανανεώθηκε με χρήση υδροβολέα δύο φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος. Μετά από 24 ώρες τα φίλτρα μαζί με το διάλυμα συλλέχθηκαν σε τριβλία διαμέτρου 10 cm και μετρούνταν ο αριθμός των σπόρων.

#### 3.3 ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗ ΧΡΩΣΗΣ

##### 3.3.1 Διαβροχή με νερό

Σε 12 σωληνάκια που κατασκευάστηκαν με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω τοποθετήθηκαν 240 σπόροι ορχιδέας *Orchis papilionacea* (20 ανά σωληνάκι). Τα σωληνάκια γεμίστηκαν με απιονισμένο νερό και τα τοποθετήσαμε σε σκοτεινό θάλαμο με θερμοκρασία 25 °C για 24 ώρες.

##### 3.3.2 Επεξεργασία με υπέρηχο

Δέκα γυάλινοι σωλήνες με 20 σπόρους ο καθένας γεμίστηκαν με απιονισμένο νερό και τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 15 λεπτά. Στη συνέχεια τους τοποθετήσαμε σε σκοτεινό θάλαμο με θερμοκρασία 25 °C για 24 ώρες.

### 3.3.3 Επεξεργασία με υποχλωριώδες ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$

Σε 15 σωληνάκια που κατασκευάστηκαν με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω τοποθετήθηκαν 240 σπόροι ορχιδέας *Orchis papilionacea* (16 ανά σωληνάκι). Τα σωληνάκια γεμίστηκαν με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  2% και παρέμειναν σε συνθήκες περιβάλλοντος εργαστηρίου για 15 λεπτά. Στη συνέχεια αφού ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό τα σωληνάκια γεμίστηκαν με απιονισμένο νερό και τα τοποθετήσαμε σε σκοτεινό θάλαμο με θερμοκρασία 25 °C για 24 ώρες.

### 3.4 ΧΡΩΣΗ ΜΕ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟ

Μετά από κάθε μεταχείριση το νερό απομακρύνονταν από τα σωληνάκια και γεμίζονταν με τετραζόλιο 2% (με pH 6). Τα δείγματα παρέμειναν σε σκοτεινό θάλαμο για 24 ώρες σε θερμοκρασία 30 °C. Το περιεχόμενο από τα 6 σωληνάκια τοποθετήθηκε σε τριβλία μετά από 6 ώρες και έγινε παρατήρηση με στερεοσκόπιο για χρώση των σπόρων, ενώ η ίδια εργασία έγινε για τα υπόλοιπα σωληνάκια μετά από 24 ώρες από την εμβάπτισή τους στο τετραζόλιο 2%.

### 3.5 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΦΑΣΕΩΝ ΜΕ ΕΠΙΠΛΕΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΒΥΘΙΖΟΜΕΝΟΥΣ ΣΠΟΡΟΥΣ

Προκειμένου να γίνει συσχέτιση της ζωτικότητας με τις φάσεις (επιπλέοντες-καταβυθιζόμενοι) τοποθετήθηκαν 240 σπόροι ορχιδέας *Orchis papilionacea* σε 12 γυάλινους σωλήνες οπότε: α) Σε 4 γυάλινους σωλήνες που περιείχαν απιονισμένο νερό τοποθετήθηκαν 80 σπόροι (20 ανά γυάλινο σωλήνα) και παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου (25 °C) για 48 ώρες. β) Σε 4 γυάλινους σωλήνες τοποθετήθηκαν 80 σπόροι (20 ανά γυάλινο σωλήνα) και τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 15 λεπτά. Στη συνέχεια παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου (25 °C) για 48 ώρες. γ) Σε 4 γυάλινους σωλήνες τοποθετήθηκαν 80 σπόροι (20 ανά γυάλινο σωλήνα) και γεμίστηκαν με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  2%. Στη συνέχεια αφού ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό οι γυάλινοι σωλήνες γεμίστηκαν με απιονισμένο νερό και παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου (25 °C) για 48 ώρες. Οι σπόροι της κάθε μεταχείρισης και κάθε φάσης διαχωρίστηκαν σε επιπλέοντες και καταβυθιζόμενους και τοποθετήθηκαν σε διάλυμα τετραζολίου 2% (με pH 6) για 24 ώρες στους 30 °C. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS.

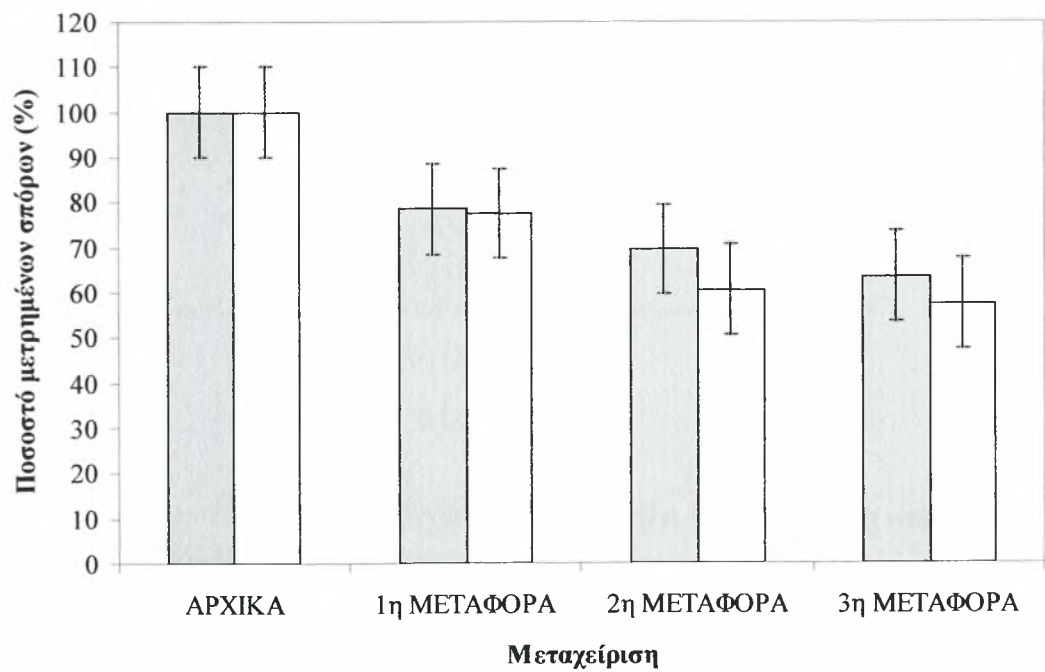
## **Κεφάλαιο 4 . Αποτελέσματα και Συζήτηση**

4. Αποτελέσματα και Συζήτηση

4.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΤΡΙΒΛΙΑ

Κατά τη διαχείριση των σπόρων σε τριβλία παρατηρούμε ότι κατά την πρώτη μεταφορά το ποσοστό των σπόρων που τελικά βρέθηκε στα μεγάλα τριβλία ήταν το 78,5% όσων αρχικά είχαν μεταφερθεί, ενώ στα μικρά τριβλία το 77,5% (σχήμα 1). Κατά τη δεύτερη μεταφορά στα μεγάλα τριβλία βρέθηκε το 69,5% και στα μικρά το 60,5%, ενώ κατά τη τρίτη μεταφορά στα μεγάλα τριβλία βρέθηκε το 63,5% και στα μικρά το 57,5% των αρχικά μεταφερόμενων σπόρων. Αν και δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων, οι απόλυτες τιμές των μέσων όρων είναι μεγαλύτερες στα μεγάλα τριβλία. Αυτό συνεπάγεται την ανάκτηση μεγαλύτερου αριθμού σπόρων κατά τη διαχείρισή τους (διαδοχικές εμβαπτίσεις σε χημικές ουσίες και εκπλύσεις οι οποίες είναι απαραίτητες για την τελική τους χρώση), όταν η μεταφορά τους γίνεται σε μεγάλης διαμέτρου τριβλία.

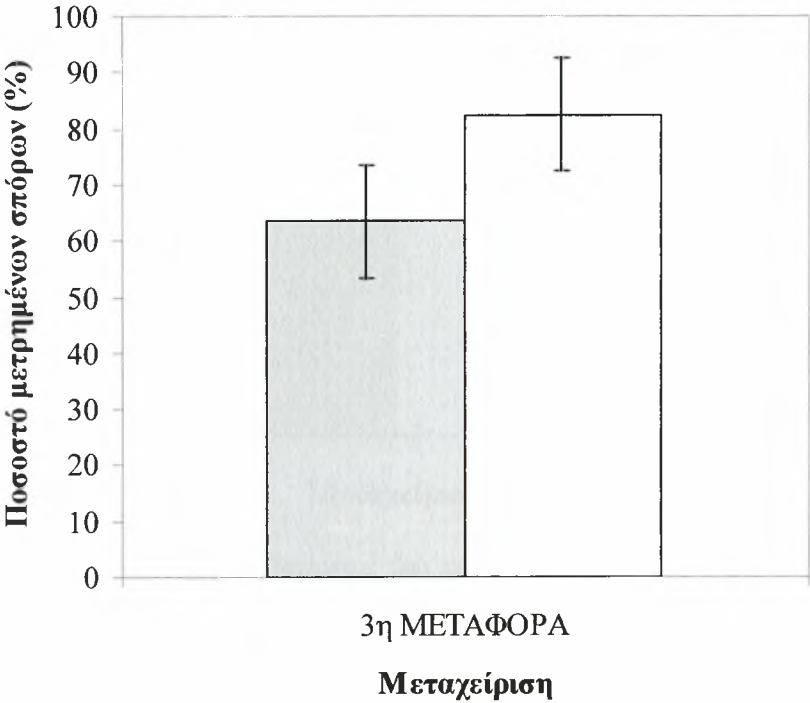
Οι απώλειες στα μικρά τριβλία είναι μεγαλύτερες πράγμα που ενδεχομένως να οφείλεται στο διαφορετικό μέγεθος του χαρτιού. Επιπλέον, δεν θα πρέπει να γίνονται πολλές μεταφορές των σπόρων σε νέα τριβλία και αυτό διότι έχουμε μεγάλες απώλειες σπόρων. Επομένως, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι κατά την πρώτη μεταφορά χάνουμε περισσότερους σπόρους από τις άλλες δύο μεταφορές, γιατί οι σπόροι δεν έχουν απορροφήσει ακόμη νερό με αποτέλεσμα να μην έχουν διογκωθεί και δεν είναι για το λόγο αυτό εύκολα ορατοί και γιατί υπάρχουν πολλοί επιπλέοντες σπόροι που προσκολλώνται στα τοιχώματα των τριβλίων.



Σχήμα 1. Ποσοστό σπόρων που βρέθηκαν στα μεγάλα (■) και μικρά (□) τριβλία μετά από κάθε μεταφορά. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

4.2 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΕ ΣΩΛΗΝΑΚΙΑ

Με τη χρήση πλαστικών σωλήνων μήκους 10 cm η διαχείριση των σπόρων έγινε χωρίς να απαιτείται η μεταφορά τους. Συνεπώς, η καταμέτρηση των σπόρων έγινε μια φορά στο τέλος όλων των φάσεων διαχείρισής τους. Το ποσοστό των σπόρων που βρέθηκαν τότε ήταν 82,5% όσων είχαν αρχικά χρησιμοποιηθεί. Όλες οι μεταχειρίσεις απολύμανση, έκπλυση και χρώση γίνονται μέσα στα σωληνάκια. Με την επεξεργασία των αποτελεσμάτων φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των σπόρων που βρέθηκαν στα μεγάλα τριβλία μετά την τρίτη μεταφορά και των σπόρων που βρέθηκαν στα σωληνάκια. Το ποσοστό των σπόρων που χάσαμε στα μεγάλα τριβλία μετά την τρίτη μεταφορά ήταν 36,5%, ενώ στα σωληνάκια ήταν 17,5%. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι οι σπόροι μπορεί να κόλλησαν στα τοιχώματα από τα σωληνάκια και έτσι δεν ήταν εύκολο να βρεθούν και να καταμετρηθούν. Επίσης, ένας αριθμός σπόρων ενδεχομένως να μην περιείχαν έμβρυο ή να μην ήταν ακέραιοι και να διαλύθηκαν κατά τη διάρκεια των διαφόρων μεταχειρίσεων και ιδιαίτερα κατά την απολύμανσή τους με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ .



Σχήμα 2. Ποσοστό σπόρων που βρέθηκαν στα μεγάλα τριβλία (■) και στα σωληνάκια (□) μετά την τρίτη μεταφορά.

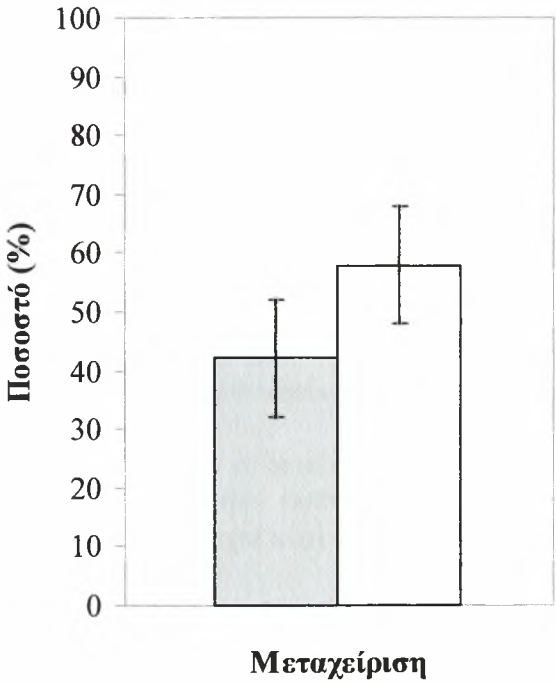
**4.3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΚΑΙ ΧΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ**

**4.3.1 Διαβροχή με νερό και χρώση με τετραζόλιο**

**4.3.1.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι**

Μετά τη διαβροχή των σπόρων με νερό για 24 ώρες μετρήθηκαν οι επιπλέοντες και οι βυθιζόμενοι σπόροι. Το ποσοστό των επιπλέοντων σπόρων που βρέθηκε ήταν

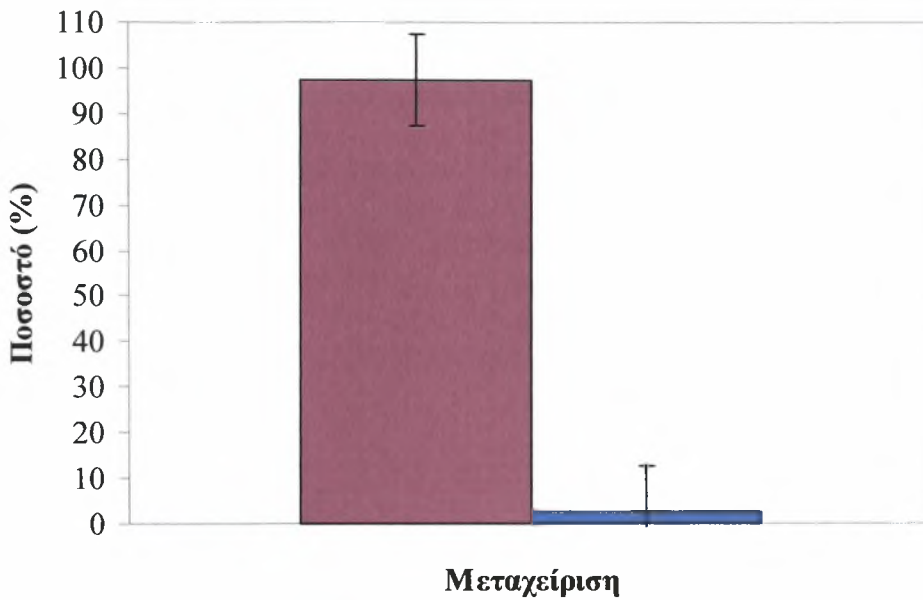
42,1% και των βυθισμένων σπόρων 57,9%. Παρατηρώντας το σχήμα 3 φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά. Το μεγάλο ποσοστό των σπόρων που δεν καταβυθίστηκαν (42,1%) καταδεικνύει ότι δεν είχαν διαβραχεί επαρκώς. Το μικρό βάρος των σπόρων, συγκεκριμένα ένας σπόρος ορχιδέας ζυγίζει  $1 \times 10^{-6}$  gr ([www.orchidseed.com](http://www.orchidseed.com)) καθώς και το μικρό τους μέγεθος που κυμαίνεται από 300-800  $\mu\text{m}$  ([www.orchidseed.com](http://www.orchidseed.com)) για ένα σπόρο, βοηθά στο να έχουν αυξημένη επιφανειακή τάση μειώνοντας την πιθανότητα καλής διαβροχής τους. Επίσης, βοηθά στο να προσκολλώνται στα τοιχώματα των δοχείων και τελικά να μη διαβρέχονται επαρκώς ή να μη μπορούν να προσμετρηθούν. Επίσης, μπορεί να οφείλεται στο ότι οι σπόροι να χρειάζονταν περισσότερο χρόνο μέχρι να διαβραχούν και να εισέλθει το τετραζόλιο στο εσωτερικό τους και να τους χρωματίσει κόκκινους.



Σχήμα 3. Ποσοστό επιπλέοντων (■) και βυθισμένων (□) σπόρων μετά τη διαβροχή τους με νερό για 24 ώρες. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

Το ποσοστό των μη χρωματισμένων σπόρων που βρέθηκε ήταν 97,4% και των χρωματισμένων 2,58%. Παρατηρώντας το σχήμα 4 φαίνεται ότι υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά. Είναι προφανές ότι το περισπέρμιο των σπόρων δεν έσπασε με αποτέλεσμα το τετραζόλιο να μην εισέλθει στο εσωτερικό των σπόρων και επομένως να μην χρωματισθούν. Από τις ουσίες σχηματίζεται το περισπέρμιο οι οποίες μπορεί να παρεμποδίζουν την είσοδο του νερού όπως φαίνεται και από το σχήμα 4.



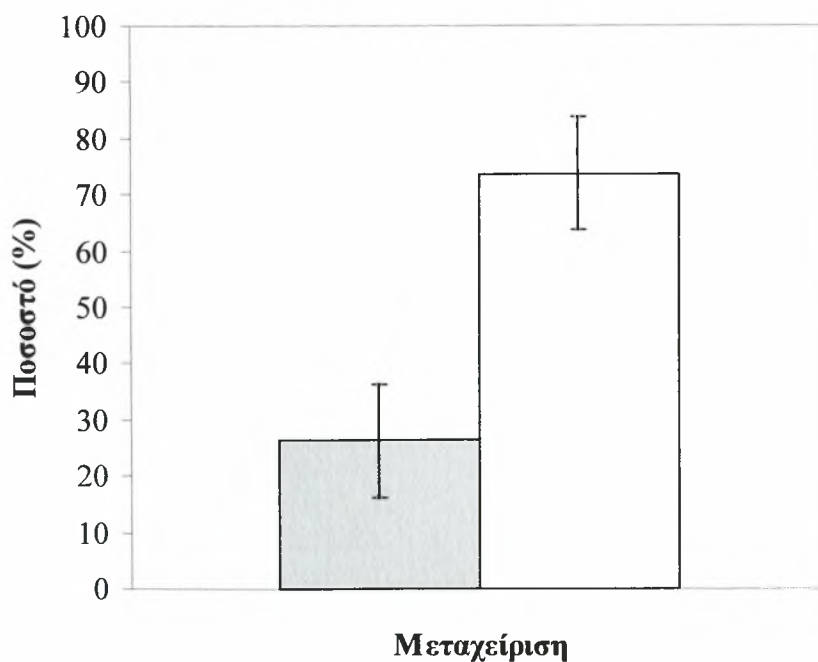


Σχήμα 4. Ποσοστό μη χρωματισμένων (■) και χρωματισμένων (■) σπόρων μετά τη διαβροχή τους με νερό για 24 ώρες. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.3.2 Επεξεργασία με υπέρηχο και χρώση με τετραζόλιο

##### 4.3.2.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι

Σε αυτή τη μέθοδο το ποσοστό των επιπλέοντων σπόρων που βρέθηκε ήταν 26,2% ενώ το ποσοστό των βυθισμένων σπόρων ήταν 73,8%. Παρατηρώντας το σχήμα 5 φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά.

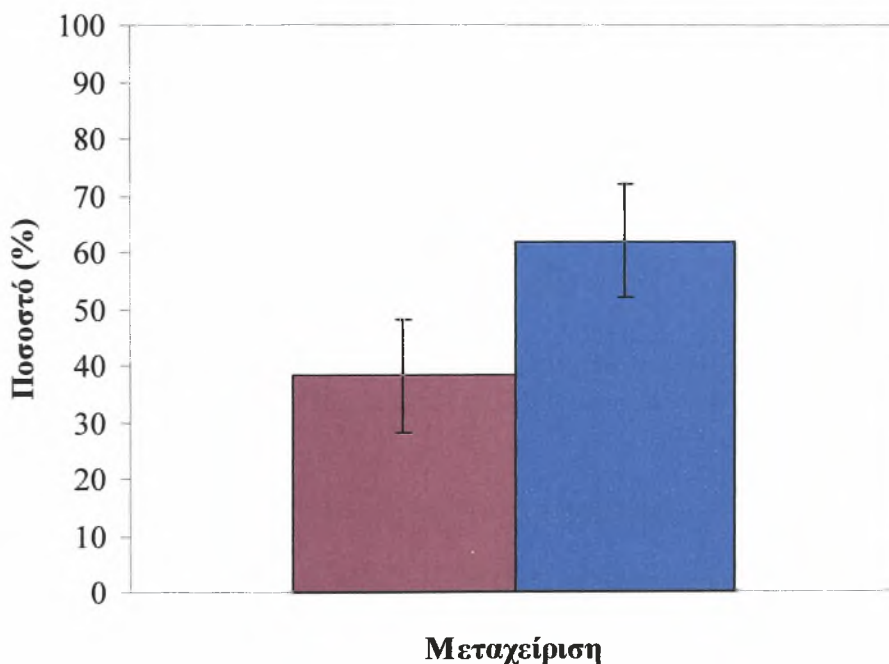




Σχήμα 5. Ποσοστό επιπλέοντων (■) και βυθισμένων (□) σπόρων κατά την δεύτερη μεταχείριση με υπέρηχο. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.3.2.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι

Σε αυτή τη μέθοδο το ποσοστό των μη χρωματισμένων σπόρων που βρέθηκε ήταν 38,1% και των χρωματισμένων 61,8%. Παρατηρώντας το σχήμα 6 φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά. Σε αυτή τη μέθοδο με τον υπέρηχο το περισπέρμιο των σπόρων με την κρούση που υπέστησαν οι σπόροι από τον υπέρηχο έσπασε με μηχανικό τρόπο και αυτό είχε ως αποτέλεσμα να εισέλθει το τετραζόλιο μέσα στους σπόρους και να τους χρωματίσει κόκκινους.

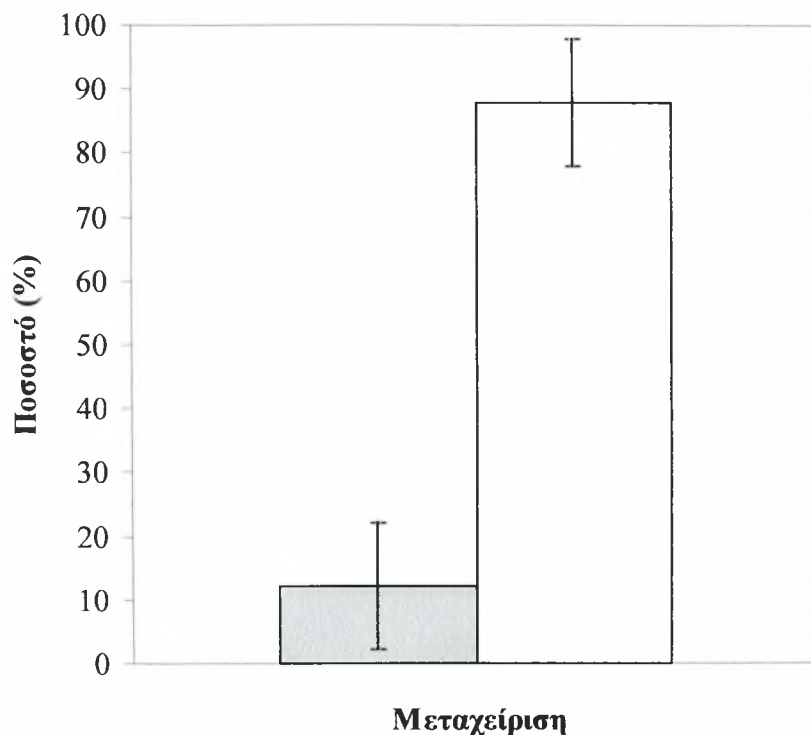


Σχήμα 6. Ποσοστό μη χρωματισμένων (■) και χρωματισμένων (■) σπόρων κατά την δεύτερη μεταχείριση με υπέρηχο. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.3.3 Επεξεργασία με υποχλωριώδες ασβέστιο $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ και χρώση με τετραζόλιο

##### 4.3.3.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι

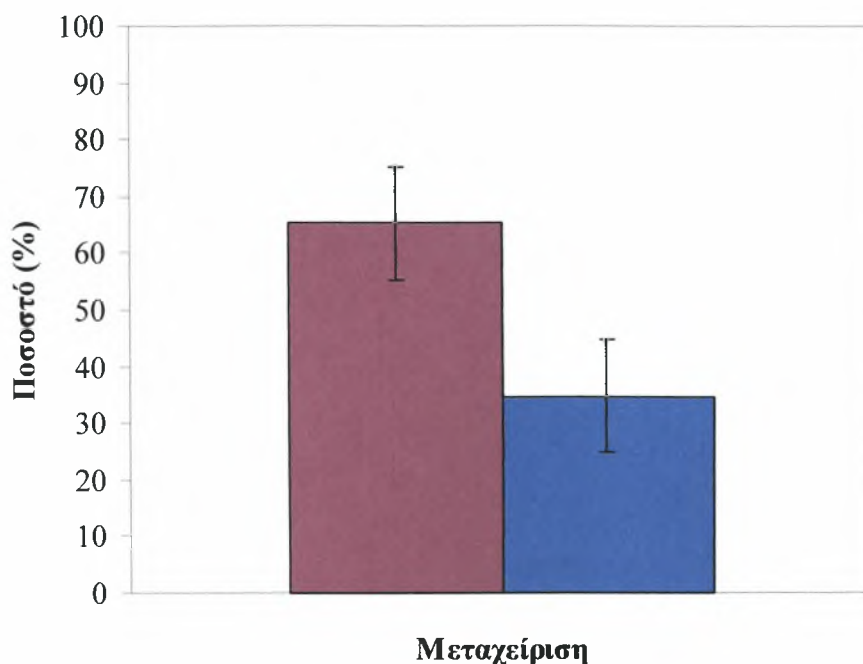
Σε αυτή τη μέθοδο το ποσοστό των επιπλέοντων σπόρων που βρέθηκε ήταν 12,2% και των βυθισμένων σπόρων ήταν 87,8%. Παρατηρώντας το σχήμα 7 φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά.



Σχήμα 7. Ποσοστό επιπλέοντων (■) και βυθισμένων (□) σπόρων κατά την τρίτη μεταχείριση με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ . Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.3.3.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι

Σε αυτή τη μέθοδο το ποσοστό των μη χρωματισμένων σπόρων που βρέθηκε ήταν 65,2% και των χρωματισμένων 34,7%. Παρατηρώντας το σχήμα 8 φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά. Σε αυτή τη μέθοδο με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  το περισπέρμιο των σπόρων έσπασε με χημικό τρόπο και αυτό είχε ως αποτέλεσμα να εισέλθει το τετραζόλιο μέσα στους σπόρους και να τους χρωματίσει κόκκινους.

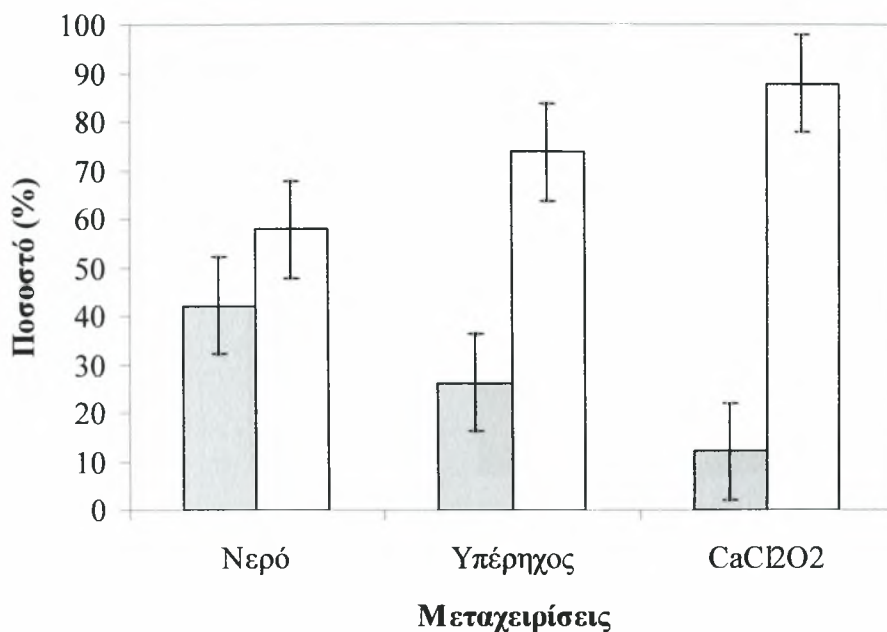


Σχήμα 8. Ποσοστό μη χρωματισμένων (■) και χρωματισμένων (■) σπόρων κατά την τρίτη μεταχείριση με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ . Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

##### 4.4.1 Επιπλέοντες και βυθισμένοι σπόροι

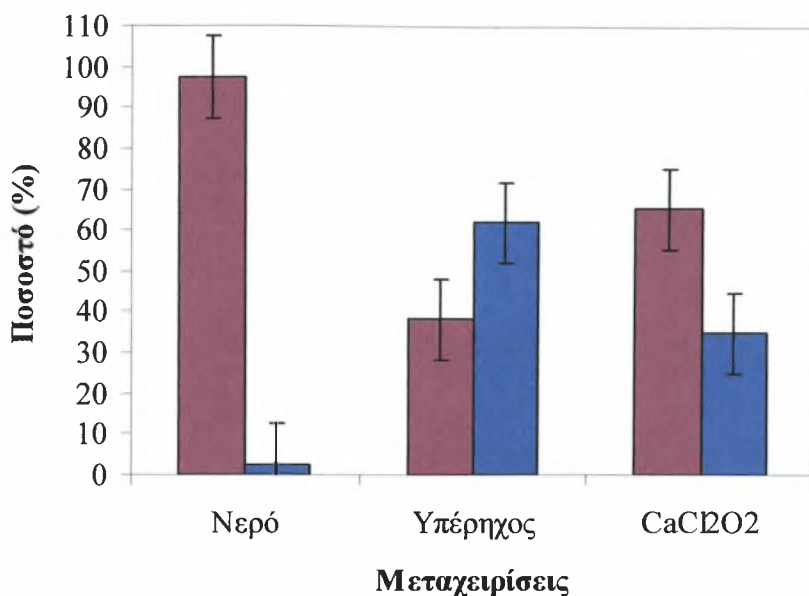
Από τις τρεις μεθόδους που πραγματοποιήσαμε το μεγαλύτερο ποσοστό επιπλέοντων σπόρων βρέθηκε στην πρώτη μέθοδο με το νερό, ενώ των βυθισμένων βρέθηκε στην τρίτη μέθοδο με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ . Στην πρώτη μέθοδο με το νερό δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ενώ το ίδιο συμβαίνει και με τις άλλες δύο μεθόδους μεταξύ τους με τον υπέρηχο και με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ .



Σχήμα 9. Ποσοστό επιπλέοντων (■) και βυθισμένων (□) σπόρων κατά τις τρεις μεταχειρίσεις. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.4.2 Μη χρωματισμένοι και χρωματισμένοι σπόροι

Από τις τρεις μεθόδους που πραγματοποιήσαμε το μεγαλύτερο ποσοστό μη χρωματισμένων σπόρων βρέθηκε στη πρώτη μέθοδο με το νερό όπου το ποσοστό ήταν 97,4% και των χρωματισμένων βρέθηκε στη μέθοδο με τον υπέρηχο όπου το ποσοστό ήταν 61,8%. Το τετραζόλιο χρωμάτισε τους σπόρους καθώς μπήκε το νερό και στη συνέχεια το τετραζόλιο μέσα στους σπόρους. Στη μέθοδο με το νερό το ποσοστό των σπόρων που χρωματίστηκε ήταν 2,58%. Αντίθετα, στις άλλες δύο μεθόδους με τον υπέρηχο και με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  το ποσοστό των σπόρων που χρωματίστηκε ήταν 61,8% και 34,7% αντίστοιχα. Αυτό συνέβη διότι και με τις δύο αυτές μεθόδους έσπασε το περισπέρμιο των σπόρων, με τον υπέρηχο με μηχανικό τρόπο με την κρούση που υπέστησαν οι σπόροι και με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  με χημικό τρόπο και αυτό είχε ως αποτέλεσμα να εισέλθει το τετραζόλιο μέσα στους σπόρους και να τους χρωματίσει κόκκινους κάτι το οποίο δεν έγινε με την πρώτη μέθοδο με το νερό.



Σχήμα 10. Ποσοστό μη χρωματισμένων (■) και χρωματισμένων (■) σπόρων κατά τις τρεις μεταχειρίσεις. Οι κάθετες μπάρες δηλώνουν το SD.

#### 4.4.3 Συσχέτιση της καταβύθισης των σπόρων με τη ζωτικότητα τους

Από τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας προέκυψε ότι:

α) Στη μεταχείριση κατά την οποία έγινε διαβροχή των σπόρων μόνο με νερό και στη συνέχεια χρώση τους, δε βρέθηκε γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τεσσάρων χαρακτηριστικών (επιπλέοντες-καταβυθιζόμενοι σπόροι και χρωματισμένοι-άχρωμοι), παρότι το  $r^2$  κατά τη συσχέτιση των σπόρων που επέπλευσαν και όσων χρωματίστηκαν ήταν σχετικά υψηλό (0,82). Αυτό συμβαίνει μάλλον γιατί πολλοί από τους επιπλέοντες σπόρους ήταν ζωντανοί (και συνεπώς χρωματίστηκαν από το τετραζόλιο), αλλά δε μπόρεσαν να απορροφήσουν αρκετή ποσότητα νερού ώστε να καταβυθιστούν, με αποτέλεσμα να προκύψει μία εσφαλμένη συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών χαρακτηριστικών.

Νερό TTC	$r^2$
Επιπλέοντες-Χρωματισμένοι σπόροι	0,82
Επιπλέοντες-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,24
Βυθισμένοι-Χρωματισμένοι σπόροι	0,04
Βυθισμένοι-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,82

Πίνακας 1. Αποτελέσματα του συντελεστή συσχέτισης  $r^2$  στη πρώτη μεταχείριση με το νερό.

β) Στη μεταχείριση κατά την οποία έγινε διαβροχή των σπόρων με νερό και επεξεργασία με υπέρηχο και στη συνέχεια χρώση τους, βρέθηκε να υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τεσσάρων χαρακτηριστικών (επιπλέοντες-καταβυθιζόμενοι σπόροι και χρωματισμένοι-άχρωμοι) καθώς το  $r^2$  κατά τη συσχέτιση των σπόρων που επέπλευσαν και όσων χρωματίστηκαν ήταν σχετικά υψηλό (0,71) και το  $r^2$  των σπόρων που καταβυθίστηκαν και όσων χρωματίστηκαν ήταν (0,99) δηλαδή σχεδόν 1. Αυτό συμβαίνει γιατί πολλοί από τους επιπλέοντες σπόρους ήταν ζωντανοί (και

συνεπώς χρωματίστηκαν από το τετραζόλιο) αλλά και απορρόφησαν αρκετή ποσότητα νερού ώστε να καταβυθιστούν, με αποτέλεσμα να προκύψει μία σχεδόν άριστη συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών χαρακτηριστικών.

Νερό Υπέρηχος TTC	r <sup>2</sup>
Επιπλέοντες-Χρωματισμένοι σπόροι	0,71
Επιπλέοντες-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,94
Βυθισμένοι-Χρωματισμένοι σπόροι	0,99
Βυθισμένοι-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,89

Πίνακας 2. Αποτελέσματα του συντελεστή συσχέτισης r<sup>2</sup> στη δεύτερη μεταχείριση με τον υπέρηχο.

γ) Στη μεταχείριση κατά την οποία έγινε διαβροχή των σπόρων με νερό και επεξεργασία με υποχλωριώδες ασβέστιο CaCl<sub>2</sub>O<sub>2</sub> δεν κατέστη δυνατό να βρεθεί γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τεσσάρων χαρακτηριστικών (επιπλέοντες-καταβυθιζόμενοι σπόροι και χρωματισμένοι-άχρωμοι) καθώς το r<sup>2</sup> κατά τη συσχέτιση των σπόρων που επέπλευσαν και όσων χρωματίστηκαν ήταν πολύ χαμηλό (0,03) όπως και το r<sup>2</sup> των σπόρων που καταβυθίστηκαν και όσων χρωματίστηκαν ήταν και αυτό επίσης πολύ χαμηλό (0,05). Αυτό συμβαίνει διότι το υποχλωριώδες ασβέστιο CaCl<sub>2</sub>O<sub>2</sub> κατά τη μεταχείριση διέλυσε το περισπέρμιο μαζί με το έμβρυο των σπόρων, με αποτέλεσμα να μην προκύψει καμία συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών χαρακτηριστικών.

Νερό CaCl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> TTC	r <sup>2</sup>
Επιπλέοντες-Χρωματισμένοι σπόροι	0,03
Επιπλέοντες-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,09
Βυθισμένοι-Χρωματισμένοι σπόροι	0,05
Βυθισμένοι-Μη χρωματισμένοι σπόροι	0,83

Πίνακας 3. Αποτελέσματα του συντελεστή συσχέτισης r<sup>2</sup> στη τρίτη μεταχείριση με το υποχλωριώδες ασβέστιο CaCl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## **Κεφάλαιο 5 . Συμπεράσματα**

## 5. Συμπεράσματα

Από την ανάλυση των μετρήσεων που ακολούθησε διαπιστώνεται ότι η χρήση μικρών πλαστικών σωλήνων μέσα στους οποίους μπορεί να γίνει η διαχείριση των σπόρων (απολύμανση, ξέπλυμα, χρώση), φαίνεται να είναι η καλύτερη μέθοδος. Με τον τρόπο αυτό χάνεται μόνο το 17,5% των σπόρων. Αντίθετα, με τη χρήση τριβλίων χάνεται από 21,5% μέχρι 36,5% των σπόρων ανάλογα με τη διάμετρό τους, είτε γιατί προσκολλώνται στα τοιχώματα ή στο διηθητικό χαρτί που χρησιμοποιείται είτε γιατί διαλύονται λόγω της χρήσης του υποχλωριώδους ασβεστίου  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$ .

Ο καλύτερος τρόπος διαχείρισης των σπόρων για να πετύχουμε υψηλότερο ποσοστό χρώσης των σπόρων φαίνεται να είναι η επεξεργασία τους με υπέρηχο, γιατί με τον υπέρηχο σπάει το περισπέρμιο των σπόρων με μηχανικό τρόπο κατά τη κρούση τους με αποτέλεσμα να εισέρχεται το τετραζόλιο στο εσωτερικό των σπόρων. Με τον τρόπο αυτό πετύχαμε χρώση 61,8% των σπόρων, ενώ με διαχείριση με νερό και με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  επετεύχθη χρώση 2,58% και 34,7% αντίστοιχα. Βέβαια θα πρέπει να σημειωθεί ότι η χρήση του υπέρηχου θα πρέπει να γίνεται με προσοχή καθώς τα σωληνάκια θα πρέπει να παραμένουν μέσα στον υπέρηχο μέχρι ένα συγκεκριμένο χρονικό όριο, διότι αναπτύσσεται εντός του υπέρηχου υψηλή θερμοκρασία και υπάρχει κίνδυνος καταστροφής των εμβρύων των σπόρων.

Από τη στατιστική επεξεργασία που πραγματοποιήσαμε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS για να ελέγξουμε αν υπάρχει συσχέτιση της καταβύθισης των σπόρων με τη ζωτικότητα τους με τις τρεις μεταχειρίσεις με νερό, με υπέρηχο και με υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  είδαμε ότι στη μεταχείριση με το νερό υπάρχει μια εσφαλμένη συσχέτιση μεταξύ των καταβυθισμένων σπόρων και των χρωματισμένων. Αντίθετα, στη μεταχείριση με τον υπέρηχο υπάρχει μια άριστη συσχέτιση μεταξύ των καταβυθισμένων σπόρων και των χρωματισμένων, ενώ στη τρίτη μεταχείριση με το υποχλωριώδες ασβέστιο  $\text{CaCl}_2\text{O}_2$  δεν βρέθηκε να υπάρχει καθόλου συσχέτιση.

Συνεπώς, καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η καλύτερη μέθοδος για διαχείριση των σπόρων, για χρώση αλλά και για έλεγχο συσχέτισης της καταβύθισης των σπόρων με τη ζωτικότητά τους είναι με τον υπέρηχο αφού το  $r^2$  εδώ είναι 0,99 και επομένως μπορούμε με αξιοπιστία να ελέγξουμε από τους καταβυθισμένους σπόρους που χρωματίστηκαν τη ζωτικότητά τους.



## **Κεφάλαιο 6 . Βιβλιογραφία**

## 6. Βιβλιογραφία

1. Άλκιμος Α., 1988. Οι orchidees της Ελλάδας. Εκδόσεις Ψύχολου: 13-30.
2. Αντωνόπουλος Ζ., 2009. Orchidees της Ελλάδας το γένος *Ophrys*. Εκδόσεις Mediterraneo: 30-40.
3. Χα Α., 2007. Σποροπαραγωγή Φυσιολογία και Τεχνολογία Σπόρου, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής και Ζωικής Παραγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας: 31-37.
4. Χρήστου Ε., 2008. Τεχνοοικονομική Ανάλυση Επιχειρηματικής Καλλιέργειας Orchideas στη Σάμο. Πτυχιακή διατριβή, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης.
5. Chawla H. S., 2002. Introduction to Plant Biotechnology. Sterilization Techniques 4: 23-26.
6. Vujanovic V., St-Arnaud M., Barabe D., Thibeault G., 2000. Viability Testing of Orchid Seed and the Promotion of Colouration and Germination. Annals of Botany 86: 79-86.
7. Yaldagard M., Mortazari S. A., Tabatabaie F., 2008. The Effectiveness of Ultrasound Treatment on the Germination Stimulation of Barley Seed and it's Alpha-Amylase Activity. International Journal of Chemical and Biological Engineering 1: 54-57.
8. [www.aliaswater.com](http://www.aliaswater.com)
9. [www.greekorchids.gr](http://www.greekorchids.gr)
10. [www.hielscher.com](http://www.hielscher.com)
11. [www.orchidseed.com](http://www.orchidseed.com)
12. [www.vita.gr](http://www.vita.gr)

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000114111

